

Aus dem Institut für Arzneimittel
des Bundesgesundheitsamtes zu Berlin
- Abteilung für experimentelle und klinische Pharmakologie -
Abteilungsleiter: Prof. Dr. med. Günther Stille

**INTRAZEREBROVENTRIKULÄRE
ELEKTROLYTVERABREICHUNG UND
MORPHIN—ANALGESIE BEI DER RATTE**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Marlies Igel-Thorn
aus Itzehoe
1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546612_0019

Aus dem Institut für Arzneimittel des Bundesgesundheitsamtes
zu Berlin

- Abteilung für experimentelle und klinische Pharmakologie -

Abteilungsleiter: Prof. Dr. med. Günther Stille

INTRAZEREBROVENTRIKULÄRE ELEKTROLYTVERABREICHUNG UND
MORPHIN-ANALGESIE BEI DER RATTE

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von

Marlies Igel-Thorn geb. Igel aus
Itzehoe
1984

Referent: Prof. Dr. med. Günther Stille

Co-Referent: Prof. Dr. H. Rommelspacher

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 15. 8. 1984

FÜR VOLKER UND NIELS

INHALTSVERZEICHNIS

Seitenzahl

1.	<u>VORWORT</u>	7
2.	<u>EINLEITUNG</u>	9
2.1	Opiatrezeptoren	9
2.2	Die Rolle des cAMP bei der Opiatbindung und biochemische Zellantwort	13
2.3	Analgesie	16
2.4	Die Wirkung des Na ⁺ auf den Opiatrezeptor	17
2.5	Entwicklung der eigenen Fragestellung	24
2.5.1	Arbeitshypothese	25
3.	<u>METHODIK UND MATERIAL</u>	27
3.1	Lokalisation der zentralen "Analgesieorte"	27
3.2	Intrazerebroventrikuläre und intrazerebrale Injektion	28
3.3	Eigene Untersuchungen	30
3.3.1	Versuchstiere, Tierhaltung und Vorbereitung	30
3.3.2	Operationsdurchführung	30
3.3.3	Versuchsplanung	37
3.3.4	Gruppeneinteilung	39
3.3.5	Tierbehandlung	40
3.3.6	In den Versuchen verwandte Geräte, Substanzen, Pharmaka und Reagentien	41
3.3.7	Dosisermittlung der Reagentien und Pharmaka	42
3.3.8	Durchführung der Versuche	44
3.3.9	Kontrolle des Kathetersitzes	48
3.3.10	Statistische Methoden	48

4.	<u>ERGEBNISSE</u>	50
4.1	Ergebnisse der einzelnen Auswertungs- gruppen	50
4.1.1	Gruppe mit Behandlungsart	50
4.1.1.1	Gruppe α	50
4.1.1.2	Gruppe β	50
4.1.1.3	Gruppe γ	52
4.1.1.4	Gruppe δ	55
4.1.1.5	Gruppe ϵ	55
4.1.2	0-Wertbestimmung	55
5.	<u>DISKUSSION</u>	57
5.1	Vergleich der Auswertungsgruppen	57
5.1.1	"Morphin NaCl" im Vergleich zu "Morphin Scheininjektion"	57
5.1.2	"Morphin NaCl" im Vergleich zu "Morphin Saccharose"	58
5.1.3	"Morphin Saccharose" im Vergleich zu "Morphin Scheininjektion"	59
5.1.4	"Nur Saccharose" im Vergleich zu "Nur NaCl"	59
5.2	Beurteilung der eigenen Ergebnisse	61
5.3	Ioneneffekt und Saccharosewirkung	61
5.4	Mögliche Ursachen für unterschiedliche Ergebnisse in der Literatur	63
6.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	65
7.	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	67
8.	<u>ANHANG: Wertetabellen</u>	83
9.	<u>LEBENS LAUF</u>	112

Im Text vorkommende Abkürzungen:

Ac	Adenylatcyclase
ADH	antidiuretisches Hormon
AIB	Arzneimittelinstitut des Bundesgesundheits- amtes zu Berlin
B max	die Gesamtzahl der Bindungsstellen
C	Celsius
cAMP	cyclisches 3'- 5'- Adenosinmonophosphat
DOC	Desoxycorticosteron
EK ₅₀	Konzentration, bei welcher 50 % der Individuen eines Kollektivs eine bestimmte Wirkung zeigen
g	Gramm
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Inj	Injektion
ICV	intrazerebroventrikulär
K _D -Werte	reciprocal indices of affinity
Kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
Konz	Konzentration
LD ₅₀	Dosis, bei welcher 50 % der Individuen eines Kollektivs getötet werden
LS	limbisches System
Lsg	Lösung
mG	Milligramm
ml	Milliliter
mM	Millimol pro Liter
Na.-A.-V.	Natrium-Antwort-Verhältnis
NEM	N-ethylmaleimide
OP	Operation
PG	Prostaglandin
Rez	Rezeptoren
RM	Rückenmark
s.c.	subcutan
SH	Sulphydryl
Tris	Tris(Hydroxymethyl)-Aminomethan-Puffer
Ventr	Ventrikel
ZNS	zentrales Nervensystem

1. VORWORT

Die analgetische Wirkung des Mohnsaftes (Opium) ist seit dem klassischen Altertum bekannt (66). 1805 gelang es Adam Sertürner in Paderborn erstmalig, Morphin (das analgetisch wirkende Hauptalkaloid) in reiner Form darzustellen. Die Wirkung dieser Substanz auf den Organismus beobachtete er an Hunden und nannte sie später aufgrund ihres "schlafmachenden Prinzips" nach Morpheus, dem Gott des Schlafes Morphinum (7, 44, 66).

Inzwischen sind die zahlreichen Wirkungen, die das Opiat auf den Organismus unterschiedlicher Tierspezies und den Menschen ausübt, weitgehend bekannt, wenn auch noch viele Fragen offen sind.

Besonders der Wirkungsmechanismus und die Interaktion der Substanz mit anderen Stoffen steht heute im Mittelpunkt des Interesses (3, 8, 11, 13, 16, 29, 43, 44, 49, 69, 83).

Betrachtet man die einzelnen Reaktionen, die Morphin im Organismus auslöst, so ist es sinnvoll, die Wirkung bei akuter und chronischer Morphingabe zu unterscheiden.

Bei akuter Applikation beobachtet man Veränderungen einer Vielzahl reflektorischer Reaktionen des Organismus, die man als Schutzreflexe zusammenfaßt.

Morphin besitzt einerseits stark analgetische aber auch erregende Wirkung, die sowohl auf zentrale als auch auf periphere Angriffsorte zurückgeführt werden können.

Die Wirkungen des Morphins auf periphere Organe äußern sich, abgesehen von den Blutgefäßen, in einer Tonussteigerung der glatten Muskulatur an Magen, Darm, Ureteren, Harnblase und Gallenblase (29, 66).

Miktionsstörungen werden aufgrund der Aktivitätssteigerung der glatten Muskulatur des Spinkter externus vesicae verursacht. Der antidiuretische Effekt wurde durch Ausschüttung von ADH erklärt (29). Untersuchungen von Huidobro et al. (50) lassen aber auch eine periphere Wirkung dafür in Betracht kommen. Die bekannteste und meist untersuchte zentrale Wirkung ist die

Analgesie, die in der vorliegenden Arbeit von besonderem Interesse ist und auf die später ausführlicher eingegangen wird.

Das Stammhirn reagiert mit einer sedativen bis narkotischen Antwort. Die vegetativen Zentren der Medulla oblongata können gedämpft werden und es kommt zu Atemdepression, anti-tussiver oder antiemetischer Wirkung (Späteeffekt).

Auch die erregenden Morphinwirkungen spielen sich auf unterschiedlichen zentralen Ebenen ab. Über Stimulierung der chemorezeptiven, emetischen Triggerzone am Boden des IV. Ventrikels (Area postrema der Medulla oblongata) kommt es zu Erbrechen kurz nach Morphingabe, über Beeinflussung der Oculomotoriuskerne zu Miosis (4, 6, 29, 100).

Morphin dämpft am funktionell isolierten Rückenmark polysynaptische (aber nicht monosynaptische) Aktivität, was zur Unterdrückung der Fremdreflexe führt (29).

Durch Untersuchungen von Atweh und Kuhar (5, 100) konnte die Frage nach der Opiatanalgesie auf spinalem Niveau wesentlich erhellt werden. Mittels autoradiographischer Untersuchungen zeigten sie eine hohe Rezeptordichte in der Marginalzellzone und der Substantia gelatinosa des RM-Hinterhornes sowie im Nucleus tractus spinalis nervi trigemini auf.

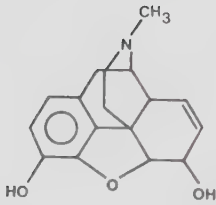
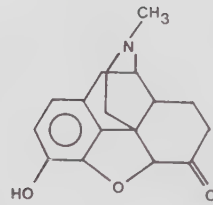
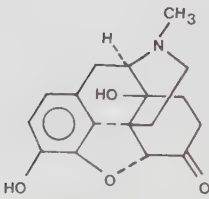
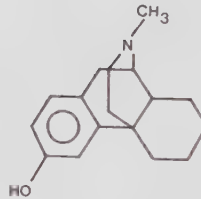
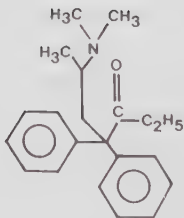
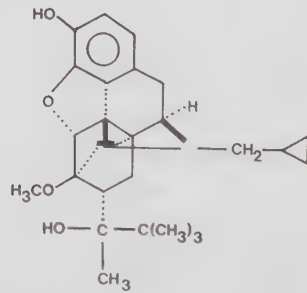
Bei fortgesetzter Anwendung des Morphins, spätestens aber nach 3 Wochen entsteht in jedem Fall eine mehr oder weniger ausgeprägte psychische Abhängigkeit, das heißt, es entwickelt sich das Verlangen, das Mittel immer wieder einzunehmen. Die starke körperliche Abhängigkeit führt zu Abstinenzerscheinungen bei brüskem Absetzen der Droge. Die Toleranzentwicklung, deren Ursachen bis heute noch nicht geklärt sind, führt dazu, daß immer höhere Dosen benötigt werden, um den gleichen Effekt zu erzielen (29, 44, 66).

2. EINLEITUNG

Die hervorragende analgetische Eigenschaft des Morphins führte dazu, halbsynthetische und synthetische Präparate zu entwickeln, von denen man meinte, daß sie zwar die schmerzstillende Eigenschaft des Morphins besaßen, jedoch die verhängnisvollen Nebenwirkungen, die toxischen und abhängig-machenden Eigenschaften nicht aufwiesen (11, 29, 66). Am Beispiel des Tilidins zeigte sich jedoch, daß die anfänglich geleugnete suchterzeugende Wirkung bei den neu entwickelten Stoffen, wenn auch schwächer, so offensichtlich doch vorhanden ist (26, 37, 38, 92). Durch strukturelle Veränderungen gelang es also, Substanzen zu entwickeln, die zwar eine stärkere schmerzstillende Eigenschaft als das Morphin besaßen (Hydromorphon, Oxymorphon, Levorphanol, Methadon, Buprenorphin), jedoch konnten die störenden Nebenwirkungen und der Mißbrauch nie vollständig ausgeschaltet werden (7, 29, 44, 66) (Abb. 1).

2.1 Opiatrezeptoren

Schon seit langem wird die Hypothese der Existenz von Opiatrezeptoren auf oder in Nervenzellen diskutiert. Das "Rezeptorkonzept" beinhaltet eine spezifische Bindungsstelle für die jeweilige Substanz sowie deren Strukturverwandte und einen Transmissionsfaktor zur Auslösung einer speziellen intrazellulären Antwort (44, 46, 57, 82, 83, 86, 89, 91, 94, 100, 101, 102) (Abb. 2). Der Grund für die Annahme von Opiatrezeptoren war die große sterisch-strukturelle Ähnlichkeit von Morphin und halb- oder vollsynthetischen Analoga, wie auch die Beobachtung, daß bei Substanzen mit Morphinwirkung stets das linksdrehende Enantiomer aktiv war, während das rechtsdrehende Isomer kaum analgetische oder toleranzinduzierende Wirkung besaß. Anscheinend kleine Veränderungen in der Molekularstruktur hatten erheb-

STRUKTURFORMELN VON:**MORPHIN****HYDROMORPHON****OXYMORPHON****LEVORPHANOL****METHADON****BUPRENORPHIN**

Opiatrezeptorenmodell modifiziert nach Herz (44)

Die Rezeptoren können in zwei Gestalten (Konformationen) vorliegen, die miteinander im Gleichgewicht stehen. Das Opiat (Agonist) paßt in die Agonistenform des Rezeptors und stabilisiert sie, so daß sie mit einem in der Zelle befindlichen Akzeptor einen Komplex bilden kann, der dann die weiteren Reaktionen in der Zelle auslöst. Der Opiat-Antagonist reagiert mit der Antagonistenform des Rezeptors und stabilisiert sie. Die Antagonistenform kann sich nicht mit dem Akzeptor vereinigen und löst somit auch keine Folgereaktionen aus.

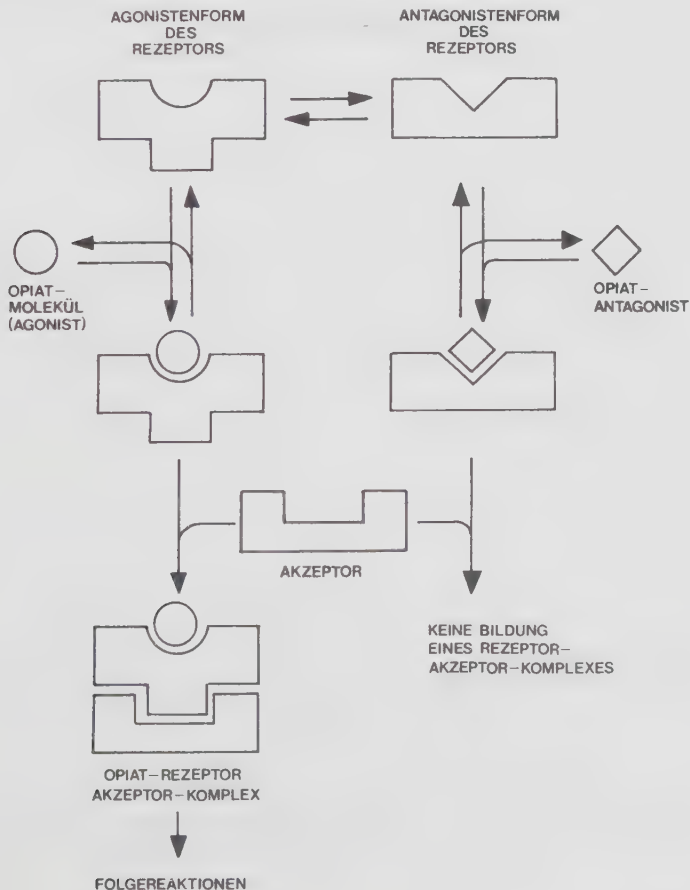


Abb. 2

liche Wirkungsveränderungen zur Folge. Die diesbezüglich interessanteste Beobachtung war, daß der Ersatz der N-Methylgruppe durch länger-kettige Alkylgruppen zu Substanzen mit ausgeprägter, spezifisch morphinantagonistischer Wirkung führte (z.B. Naloxon, Abb. 3). Hierbei handelte es sich um einen kompetitiven Antagonismus, also Konkurrenz um ein und dieselbe Bindungsstelle (100), wie in einer Vielzahl von Experimenten gezeigt werden konnte (32, 35, 47, 69, 86, 87, 91, 97).

STRUKTURFORMELN VON:

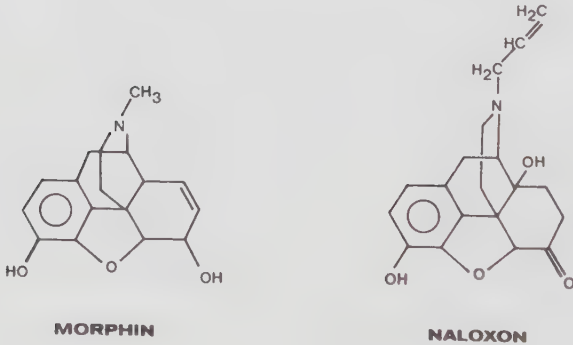


Abb. 3

Mit Hilfe radioaktiv markierter Opiate gelang es dann Anfang der 70er Jahre den Arbeitsgruppen von S. Snyder et al. in Baltimore, E. Simon et al. in New York und L. Terenius in Uppsala etwa gleichzeitig, die Existenz der Opiatrezeptoren im ZNS bei Mensch und Tier nachzuweisen (44, 100, 107).

Solche Rezeptoren wurden gefunden beim Menschen (45) und allen Vertebraten, nicht aber bei Wirbellosen (84). Besonders zahlreich sind die Rezeptoren in Teilen des Hirnstammes, vor

allem in der Umgebung des Hohlraumsystems des Hirns in Höhe des Mittelhirns (44). Eine interessante Erkenntnis war, daß auffällig viele der Regionen mit hoher Rezeptordichte dem limbischen System (LS) zugehörten.

Auch Experimente mit Hirnstromableitungen und gezielter elektrischer Stimulation (9, 53) hatten das LS als wichtigen Ort der Opiatwirkung erkennen lassen. Kuhar et al. (63) bestätigten diese Ergebnisse an Affenhirnen.

In zahlreichen autoradiographischen Experimenten konnte die so aufgefundene regionale Rezeptorverteilung bestätigt und weitere Areale mit hoher Rezeptordichte aufgedeckt werden (4, 5, 6); wie die Zona compacta der Substantia nigra, der Locus coeruleus, die Substantia gelatinosa des Rückenmarkes u.a.. Diese Ergebnisse bestätigen auch die Untersuchungen von Simon (99), Korf et al. (60) und Schubert et al. (93).

Die Bindungseigenschaften der Opiatrezeptoren, die im Plexus myentericus des Meerschweinchens entdeckt wurden, entsprachen denjenigen des ZNS (20, 61).

Die Stereospezifität, die Sättigungskinetik und die hohe Affinität der Rezeptoren zu Opiaten, v.a. aber die verblüffende Übereinstimmung zwischen pharmakologischer Potenz und Stärke der Affinität einer großen Zahl von Morphinanaloga oder -antagonisten, unterstützten schließlich die Hypothese, daß es sich bei den gefundenen Arealen tatsächlich um die Bindungsstellen der pharmakologisch relevanten Opiatrezeptoren handelte (40, 46, 97, 101, 103).

2.2 Die Rolle des cAMP bei der Opiatbindung und biochemische Zellantwort

Es ist bekannt, daß sich der Organismus bei zahlreichen hormonvermittelten Reaktionen des cyclischen 3'- 5'- Adenosinmonophosphat bedient. Die Entdeckung, daß cAMP und der

Phosphodiesterasehemmer Theophyllin die schmerzhemmende Wirkung des Morphins antagonisieren können (48) veranlaßte Collier und Roy (19) zu der Vermutung, daß auch bei der Morphinwirkung cAMP eine wichtige Rolle spielt. Sie konnten aufzeigen, daß die Prostaglandin (PG) E_1 - und PG E_2 -vermittelte cAMP-Stimulierung in Rattenhirnhomogenaten durch Opiate hemmbar war, wohingegen die basale cAMP-Produktion unbeeinflußt blieb. Diese Hemmung konnte durch Naloxon abgeschwächt werden (19). Collier und Roy (18) zeigten an einer Reihe von Opiatagonisten, daß die Hemmung der PGE-stimulierten cAMP-Fraktion gut korrelierte mit der antinociceptiven Potenz der Pharmaka, ihrem Affinitätsverhalten am Rezeptor sowie mit ihrer Fähigkeit, elektrisch stimulierte Kontraktionen des isolierten Meerschweinchenileums zu unterdrücken.

Ehrenpreis u.a. (24) bestärkten durch ihre Untersuchungen die Rolle der PGE. Sie zeigten, daß die PGE die morphinbedingte Kontraktionshemmung am Meerschweinchenileum aufzuheben vermögen. Untersuchungen an Neuroblastom-Gliom-Hybriden lieferten ähnliche Ergebnisse. Von Sharma u.a. (95) wurde jedoch ein unspezifischer Einfluß des Morphin angenommen, weil sowohl die basale als auch die Adenosin- und PGE_1 -stimulierbare Adenylatcyclase durch Opiate gehemmt wurde. Iwarsubo u.a. (52) berichteten, daß bei Zusatz von Opiaten (3-300mM) zu synaptosomalen Homogenaten des Nucleus caudatus von Ratten kein Effekt auf die dopaminabhängige Stimulation der AC sichtbar war. Während jedoch nach in-vivo-Gabe von 60mg/kg s.c. ein signifikanter Anstieg sowohl der basalen als auch der dopamininduzierten AC-Aktivität im Nucleus caudatus nachzuweisen war.

Hieraus ist ersichtlich, daß es sich um eine rezeptorgebundene Aktivität handeln muß, die auf die Anwesenheit intakter Zellen angewiesen ist.

Die Beobachtungen von Minnemann (76) wiesen in die gleiche Richtung, denn bei Zusatz von Morphin zu Gewebsscheibchen des Rattenhirnstriatum konnte er einen 30-50%igen cAMP-Abfall registrieren. Desweiteren fand er eine hochspezifische und

totale Hemmung der dopaminabhängigen AC im untersuchten Gewebe. Diese selektive Hemmung der dopaminempfindlichen AC, wie auch die teilweise Unterdrückung der basalen cAMP-Produktion konnte nicht demonstriert werden an Gewebshomogenaten, sie ist also auf intakte Zellen angewiesen. Beide Effekte waren aufhebbar durch Zusatz von Naloxon, weshalb sie mit größter Wahrscheinlichkeit über die spezifischen Opiatrezeptoren ausgelöst werden.

Auch Klee et al. (57) beschreiben in ihren Untersuchungen die Rolle des cAMP in Bezug auf die Morphinrezeptoren (Abb. 4).

Modifiziert nach Klee et al. (57)

Man ist sich darüber einig, daß Opiatrezeptoren in zwei Konformationen vorliegen (81, 97).

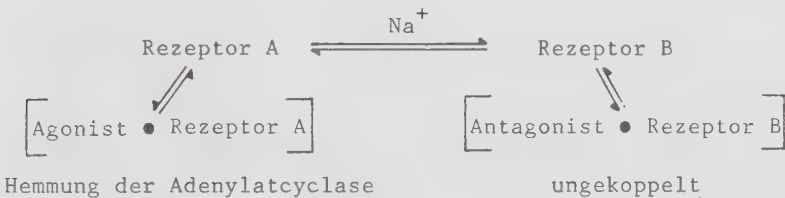


Abb. 4

Glossmann et al. (30) heben in ihren Untersuchungen die Rolle monovalenter Kationen wie Na⁺, Li⁺, K⁺ bei der Rezeptorbesetzung hervor und bestärken die Vorstellungen von Klee et al. (57). Muscarinacetylcholinrezeptoren, Opiatrezeptoren und α_2 -Rezeptoren können die Hemmung der AC über Besetzung durch Agonisten bewirken. Die Übertragung der Hemmungsinformation dieser Rezeptoren benötigt monovalente Kationen wie auch GPT. Die Besonderheit der monovalenten Kationen (Na⁺ > Li⁺ > K⁺), die an dieser Übertragung teilnehmen, ist identisch mit der Spezifität von monovalenten Kationen, die die Opiatrezeptorbindung be-

einflussen (30).

2.3. Analgesie

Die bedeutendste Eigenschaft des Morphins ist seine schmerzstillende Potenz.

"Die routinemäßige Testung von Stoffen auf eine analgetische Wirksamkeit erfolgt im Tierversuch mit Hilfe sogenannter "Analgesie" - Tests. Diesen Tests liegen nociceptive Reflexe, d.h. motorische Reaktionen auf einen Schmerzreiz, zugrunde." (29).

Studien, die sich mit der Neuroanatomie der Schmerzwege und den Assoziationsarealen befassen, berichten über die Existenz von zwei anatomisch und funktionell unterschiedlichen Systemen: Das extralemnisculäre somatosensorische System, das die affektive Motivationskomponente des Schmerzes leitet und der neospinothalamische Trakt, der die sensorischen - unterscheidenden Anteile des Schmerzes leitet (12). Die Verteilung der morphinempfindlichen Hirngebiete, die von van Ree (90) und Herz et al. (39) gefunden wurden, läßt vermuten, daß die meisten Orte mehr oder weniger eine Beziehung zu den extralemnisculären somatosensorischen Schmerzwegen haben. Dieses paramedian ascendierende System vermittelt Übertragungen vom Rückenmark zur Formatio reticularis, zum limbischen Mittelhirngebiet und zum medialen Thalamus und hat eine Verbindung zum limbischen System und assoziierenden Strukturen, die eine wichtige Rolle bei der Motivation spielen (12).

Aber auch in der Auskleidung des Spinalkanals und auf der ventralen Oberfläche des Hirnstammes wurden sensible Areale gefunden, die mit der Schmerzreaktion in Beziehung stehen sollen (29, 66, 90).

2.4. Die Wirkung des Na^+ auf den Opiatrezeptor

Die Feststellung, daß sowohl Morphinagonisten als auch -antagonisten offensichtlich am gleichen Rezeptor binden, warf die Frage auf, was die Unterscheidung eines potenten Agonisten von einem Antagonisten entsprechender Wirkungsstärke ermöglicht.

Die Diskrepanz der beiden Laboratorien von Pert & Snyder einerseits und Simon et al. andererseits trug zur Klärung dieser Frage wesentlich bei. Pert & Snyder (83) untersuchten die stereospezifische [^3H] Naloxonbindung in Hirnhomogenaten von Ratten, Meerschweinchen und Mäusen. Sie registrierten ein Bindungsoptimum bei einem pH von 7,4 des Untersuchungsmediums. Nach Hinzufügen von 1mM Calcium und Magnesium wurde die spezifische Bindung um 50 % herabgesetzt. Der Zusatz von Natrium bis zu 500 mM zeigte keinen Einfluß auf die Bindung. Simon et al. (96), die sich mit den Bindungseigenschaften von [^3H] Etorphin an Rattenhirnhomogenaten beschäftigten, beobachteten eine ausgeprägte Bindungshemmung bei Zusatz hoher Salzkonzentrationen von Na^+ und K^+ , Sulfhydrylreagentien und proteolytischen Enzymen zum Homogenat. Da Pert et al. mit Naloxon, Simon et al. aber mit Etorphin arbeiteten, wurde von Simon et al. vermutet, daß der Widerspruch möglicherweise auf einen generellen Unterschied in der Bindung von Agonisten und Antagonisten beruhe. Tatsächlich fand man heraus, daß die Bindung sämtlicher Agonisten durch bestimmte Salze gehemmt, während die Antagonistenbindung verstärkt wurde (100). In weiteren Untersuchungen an Rattenhirnhomogenaten konnten Pert & Snyder (86) tatsächlich eine erhöhte Rezeptorbindung von Naloxon, Nalorphin und Levallorphan bei Anhebung der Na^+ -Konzentration registrieren. Agonisten wie Oxymorphone, Dihydromorphen und Levorphanol wiesen dagegen eine verminderte Bindung auf. Sie zeigten weiterhin, daß die Diskriminierungsfähigkeit des Rezeptors nicht auf Salze generell zurückgeführt werden kann, sondern eine spezifische Eigenschaft

des Na^+ und in abgeschwächter Weise auch des Li^+ in der Inkubationsflüssigkeit ist.

Simon et al. (97) konnten keine weiteren anorganischen oder organischen Kationen finden, die wie Natrium dem Rezeptor eine Diskrimination zwischen Molekülen wie einem Opiat und seinem korrespondierenden Antagonisten (dem Allyl- oder Cyclopropylmethyl-Analogen) ermöglichen.

Hitzemann et al. (47) beschrieben in ihren Untersuchungen an Nervenendigungen von Mäusen eine erhöhte Naloxonbindung durch Hinzufügen von Na^+ und Li^+ zum Inkubationsmedium, während K^+ keine Wirkung zeigte. Weitere Untersuchungen von Simon et al. (97) stützten die vorangegangenen Ergebnisse und erhärten die Vermutung der zentralen Rolle des Na^+ . Eine vermehrte Antagonistenbindung konnte bei einer Na^+ -Konz. von 100-200 mM registriert werden. Auf der anderen Seite übte KCl bei einer Konzentration von 100-200 mM eine mäßige Hemmung der Bindung von beiden -Levorphanol und Naltrexon- aus.

Bei Salzkonzentrationen von oder über 200 mM war ein irreversibler Verlust der Bindung sowohl von Agonisten als auch von Antagonisten zu verzeichnen, der mit ansteigender Salzkonzentration weiter zunahm. Dieses Phänomen ist allerdings verschieden von den reversiblen Veränderungen der Bindung in Gegenwart von Na^+ , die zwischen Agonisten und Antagonisten unterscheidet (97).

Die Beobachtung, daß Agonisten und Antagonisten offenbar am gleichen Rezeptor binden (106), und der unterschiedliche Einfluß von Na^+ auf die Bindung bzw. Dissoziation der Opiate an ihren Rezeptoren, veranlaßte Pert & Snyder (87) zu folgenden Untersuchungen:

Einem Inkubationsmedium aus Rattenhirnhomogenaten und $[^3\text{H}]$ Naloxon (1,5 nM) wurden unterschiedlich hohe Konzentrationen verschiedener nichtradioaktiver Opiate zugesetzt. Diese Drogen waren mehr oder weniger stark in der Lage, die spezi-

fisch $[^3\text{H}]$ -Naloxon-Bindung zu hemmen.

Interessant war der Vergleich der Hemmstärke in Gegenwart und Abwesenheit von NaCl im Untersuchungsmedium. Die Opiatkonzentration, die fähig war, 50 % der $[^3\text{H}]$ -Naloxon-Bindung zu hemmen (in Gegenwart von 100 mM NaCl) wurde durch die entsprechende EK_{50} (in Abwesenheit von NaCl) dividiert, um so ein "Natrium-Antwort-Verhältnis" zu erhalten. Opiatagonisten erlitten große Verluste der Hemmstärke, wenn Na^+ dem Medium zugeführt wurde. Im Gegensatz dazu zeigten pure Opiatantagonisten keinerlei Verlust ihrer Hemmstärke. Das Na^+ -Antwort-Verhältnis scheint ein wirkungsvoller Indikator der oft unvorhersagbaren pharmakologischen Eigenschaften in-vivo zu sein. Die faszinierende Feststellung, daß das Na^+ -A.V. sehr stark innerhalb einer Klasse von Drogen variiert, die normalerweise als "Agonisten" zusammengefaßt werden, veranlaßte Pert zu der Spekulation, daß vielleicht einige Agonisten reiner in ihrer Wirkung seien als andere. Hieraus ergibt sich die Frage, ob Drogen mit höherem Na^+ -A.V. stärker abhängig machen, oder vielleicht effektivere Schmerzmittel sind, als solche mit niedrigem Na^+ -A.-V.. Doch um diese Frage zu beantworten, bedarf es noch weiterer Untersuchungen.

Lee et al.(69) zeigten durch ihre Studien an Rattenhirnhomogenaten, daß sowohl Na^+ als auch K^+ die Affinität der sättigungsfähigen Bindungsstellen für Dihydromorphin senkte. Die Dihydromorphinbindung wurde signifikant erniedrigt bei 50 mM NaCl oder 50 mM KCl. Generell war der hemmende Effekt von NaCl größer als der von KCl. Na^+ senkte signifikant B_{max} der sättigungsfähigen Bindungsstellen für Dihydromorphin, wohingegen K^+ die maximale Bindung nicht veränderte.

Pasternak et al (80) berichtete, daß Mg^{++} die Dihydromorphinbindung erhöht, und zwar stärker in Gegenwart von Na^+ , aber in anderen Untersuchungen auch in Abwesenheit von Na^+ . Lee et al.(69) dagegen konnten in ihren Studien keine Veränderungen weder durch

Mg^{++} noch durch Ca^{++} von B_{max} noch von K_D -Werten (reciprocal indices of affinity) für die sättigungsfähige Dihydromorphinbindung feststellen. Die Ursache dieser Unterschiede ist unbekannt. Unter Berücksichtigung der Fähigkeit von Na^+ , die sättigungsfähige Naloxonbindung zu erhöhen, berichteten Pert & Snyder (86), daß 100 mM Na^+ einen 2fachen Anstieg der max. Zahl der Bindungsstellen für Antagonisten bewirkte ohne sichtbaren Effekt auf die Bindungsstellenaffinität. Diese Untersucher postulierten, daß Na^+ die Zahl der Naloxonbindungsstellen erhöht; durch Freilegung neuer Bindungsstellen. Simon et al. (96, 97) jedoch berichteten, daß der durch Na^+ hervorgerufene Anstieg der Antagonistenbindung primär durch eine Affinitäts-erhöhung zustande kommt und nicht durch eine Erhöhung verwe-
 rbarer Bindungsstellen. Die Ergebnisse von Lee et al. (69) unterstützen diese Behauptung von Simon et al. (96, 97) und stützen die Hypothese, daß die durch Na^+ verursachte Erhöhung der Naloxonbindung das Ergebnis von Na^+ -induzierter Konformationsver-
 änderung der Bindungsstellen ist, die die Affinität der Stelle für Agonisten und Antagonisten verändert.

Eine Erhärtung der These einer Rezeptorkonformationsveränderung durch Na^+ bringt eine Studie von Simon et al. (98), der die Kinetik der Opiatrezeptorinaktivierung durch die alkylierende Substanz N-ethylmaleimide (NEM) untersuchte: Bei Inkubation von Membranfraktionen aus Rattenhirn mit NEM und späterer Inaktivierung des nichtreagierenden NEM aus dem Ansatz, ließ sich ein Abfall der stereospezifischen Opiatbindungsfähigkeit der Homogenate registrieren. Die Rezeptorinaktivierung war abhängig vom Vorhandensein einer Sulfhydryl (SH)-Gruppe am Rezeptor, die für die NEM-Bindung notwendig war. Fügte man dem Ansatz zuvor ein wenig Opiat oder Antagonisten zu, so konnte die Rezeptorinaktivierung vermindert werden. Die Rezeptoren wurden offensichtlich vor dem Zugriff des NEM geschützt. Simon folgerte daraus, daß die SH-Stelle am Rezeptor der Opiatbindungsstelle räumlich eng benachbart sein muß.

Ein vergleichbarer Rezeptorschutz wurde erzielt, wenn NEM in Gegenwart von 100 mM NaCl dem Inkubationsmedium zugesetzt wurde (Abb.5); die gleiche Konzentration, die in Simons früherem Experiment (96) die Etorphinbindung an Homogenate am deutlichsten abgeschwächt hatte ! Da Na^+ selbst ohne Einfluß auf die Alkylierung der SH-Gruppe ist, wurde gefolgert, daß die SH-Gruppe dem NEM durch Konformationsänderung des Rezeptorproteins schlechter zugänglich gemacht worden sein mußte ! Die Rezeptorprotektion wies die gleiche Ionenspezifität auf, wie bei den Untersuchungen der Ligandenaffinität. Da auch die gleiche Na^+ -Dosis am wirksamsten war, wurde daraus geschlossen, daß die SH-maskierende Na^+ -induzierte Konformationsänderung am Rezeptor dieselbe ist, die die Affinitätserhöhung des Rezeptors zu Opiatantagonisten und Affinitätsverminderung zu Agonisten bewirkte.

Modell nach Simon et al. (100) für die Vorstellung des allosterischen Natriumeffektes am Opiatrezeptor.

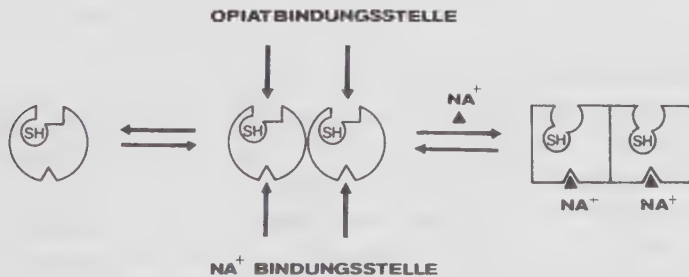


Abb. 5

Wenn Na^+ am allosterischen Ort gebunden wird, verändert sich die Gestalt des Bindungsortes. Antagonisten werden nun mit höherer, Agonisten mit verminderter Affinität gebunden. Zusätzlich resultiert eine Maskierung der SH-Gruppe am Bindungs-ort, so daß dieser nun dem Zugriff SH-alkylierender Substanzen entzogen wird.

All diese Untersuchungen zeigen, daß der Opiatrezeptor seine Gestaltverändern kann. Wenn auch die Interpretation der Ergebnisse in verschiedene Richtungen läuft, so steht doch fest, daß bei der Rezeptorveränderung Ionen eine wichtige Rolle spielen, vor allem aber das Natrium.

Es stellt sich nun die Frage, ob diese Ioneneinflüsse auch in-vivo in "Analgesieversuchen" mit Morphin darzustellen sind.

In früheren Untersuchungen des Arzneimittelinstitutes des Bundesgesundheitsamtes zu Berlin (AIB) konnte gezeigt werden, daß bei chronischer Morphingabe eine nachweisliche Erhöhung von Serum- Na^+ und -creatinin vorhanden ist (105). Diese Untersuchungen von Stürzebecher und Kabir zeigen allerdings keine Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Huidobro et al. (50), die eine Wasser- und NaCl -Retention bei Ratten nur im Akutversuch beobachteten, während sie bei chronischer Morphingabe eine Toleranzentwicklung gegenüber dieser Morphinwirkung aufzeigten.

Chu, Klemp und Stille (16) beobachteten bereits 1978, daß bestimmte Diuretika einen Effekt auf die Morphinwirkung chronisch behandelter Ratten haben.

Bei diesen Tieren wurden typische Verhaltensweisen, die nach Morphininjektion auftreten, beobachtet und der Einfluß gleichzeitig verabreichter Diuretika registriert.

Die Katalepsie¹⁾, ein charakteristisches Morphinakutsymptom, und das ipsilaterale Drehverhalten (ein Toleranzphänomen), welches bei einseitig hirnlädierten Tieren in der Regel auftritt, wurde durch zusätzliche Gabe von Furosemid und Spirolakton beeinflusst. Durch zweimalige tägliche s.c. Injektion

1) Eine Vorderpfote des Tieres wird an einen 7cm hohen Stab gebracht. Man beobachtet, wie lange dieses Tier in dieser Stellung verbleibt.

von Morphin wurden die Tiere tolerant gemacht. Nach etwa einer Woche war die Katalapsie, das primär dominierende Symptom, nicht mehr vorhanden und ipsilaterale Drehbewegungen kamen immer stärker zum Vorschein. Wurde vor der Morphingabe Furosemid verabreicht, konnte eine Umkehr dieser Symptome beobachtet werden. Die Drehbewegungen nahmen ab und die Katalapsie trat erneut in den Vordergrund. Das Akutsymptom (Katalapsie), das normalerweise nach 3 Tagen wieder verschwunden war, hielt bei Tieren, die zusätzlich mit Spironolacton (50mg/kg/d)²⁾ behandelt wurden, noch bis zum 5. Tage an. Bei morphintoleranten Ratten (2x50mg/kg/d) konnte die LD₅₀ durch einmalige Spironolactongabe (50mg/kg) von 1350 mg/kg auf 850 mg/kg gesenkt werden.

Aus diesen Beobachtungen wurde gefolgert, daß Spironolacton und Furosemid die Morphinempfindlichkeit erhöhen und die Toleranz gegenüber Morphin reduzieren.

In einer weiteren Arbeit des Instituts zeigte Goedecke et al. (31), daß die "analgetische" Potenz von Morphin bei vorheriger Gabe von Furosemid und K-canrenoat, einem Spironolactonanalogen erhöht wurde.

Bei Vorbehandlung mit einem natriumretinierenden Aldosteronanalogen (Desoxycorticosteronacetat (DOCA)) konnte dagegen ERTsova (109) eine Verminderung der "Morphinanalgesie" registrieren.

Die Untersuchungen von Liermann (73), der den Naloxon-induzierten Morphinentzug, in Abhängigkeit von der Vorbehandlung mit Diuretika untersuchte, brachte weitere Informationen. Er zeigte eine Abschwächung des Morphinentzuges, gemessen an definierten Entzugssymptomen, durch Spironolacton und Furosemid. Desoxycorticosteron führte zu einer Verstärkung des Entzugsbildes, wohingegen ADH keinen Einfluß auf die Entzugs-

2) In Gegenwart von Aldosteron steigert Spironolacton beim Menschen die Na⁺- und senkt die K⁺-Ausscheidung.

stärke zeigte.

Obwohl die ADH-Wirkung umstritten ist, und Krivoy et al. (62) und de Wied et al. (22) andere Ergebnisse in Hinsicht auf die Toleranzentwicklung bei Ratten registrierten, so wird doch deutlich, daß Diuretika die Entzugssymptomatik beeinflussen können. Durch die oben ausgeführten Untersuchungen konnte im ganzen gezeigt werden, daß Eingriffe in den Elektrolythaushalt offenbar die Morphinwirkung beeinflussen.

2.5. Entwicklung der eigenen Fragestellung

Da institutsinterne Studien (105) darauf hinweisen, daß während chronischer Morphinbehandlung Na^+ und Wasser zurückgehalten werden, stellt sich die Frage, inwieweit Veränderungen im H_2O - und Ionenhaushalt mit dem Ausmaß der Toleranzentwicklung nach chronischer Morphinbehandlung in Zusammenhang gebracht werden können.

Die Arbeit von Chu et al. (16), die unterschiedlich angreifende Diuretika in Bezug auf die Ausbildung der Morphintoleranz untersucht haben, argumentieren zugunsten eines möglichen Zusammenhangs zwischen Na^+ -Retention und Toleranzentwicklung. Ihre Hypothese ist, daß bei erhöhter Natriumretention die Toleranz steigt, also die Empfindlichkeit gegenüber gleichbleibenden Morphindosen abnimmt. Unter Diuretika, die zu einem Natriumverlust führen, soll es zu einem gegenläufigen Effekt kommen.

Liermann (73), der die Entzugssymptomatik bei morphintoleranten Ratten und deren Beeinflussung mittels Veränderung des H_2O - und Elektrolythaushaltes untersuchte, zeigte, daß DOC diese verstärkte, wohingegen das natriuretische Furosemid und der Aldosteronantagonist Aldactone eine Abschwächung bewirkten. Seine Ergebnisse stützen die These, daß eine Erniedrigung des Körpernatrium zu einer Zunahme der Morphinbindung und zu einer Verstärkung der Morphinwirkung in vivo

führt.

Unter Berücksichtigung der Untersuchungen im Institut für Arzneimittel des BGA kann man folgende Aussagen zusammenfassen:

- Furosemid und Spironolacton verstärken die Morphinwirksamkeit, verlangsamen die Toleranzentwicklung und erniedrigen die letale Dosis bei toleranten Tieren (16).
- Ein Aldosteronwirksamer Stoff bewirkt beim Entzug morphintoleranter Ratten eine Verstärkung der Entzugssymptomatik, Furoseme und Aldactone bewirken eine Abschwächung (73).
- Es wird vermutet, daß ein Zusammenhang besteht zwischen Natrium- und H_2O - retention und Entwicklung der Morphintoleranz (16).
- Nach mehrfacher Morphingabe kommt es bei Ratten zu einer nachweislichen Erhöhung von Serum- Na^+ und -creatinin. Es wird die Hypothese aufgestellt, daß diese Elektrolytverschiebung zu allosterischen Veränderungen der Morphinrezeptoren führen und so zur Toleranzentwicklung beitragen könnten (105).

Die bisherigen Untersuchungen beschäftigten sich vor allem mit der veränderten Morphinwirkung bei medikamentöser Beeinflussung des Elektrolythaushaltes bei abhängigen Ratten. In diesem Zusammenhang schien es von Interesse, ob eine akute Veränderung des Elektrolytangebotes an den Rezeptoren Einflüsse auf die Morphinwirkung hat.

2.5.1 Arbeitshypothese

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der "analgetischen" Wirkung von Morphin bei einmaliger Gabe und soll folgende Fragen beantworten.

- a) Sind die im in-vitro-Versuch am Rezeptor beobachteten Affinitätsveränderungen für Morphin und seine Antagonisten auch bei Veränderungen des Elektrolytangebotes an den

Rezeptoren in-vivo zu erwarten?

- b) Kommt es bei Anhebung des Na^+ -spiegels in der Nähe rezeptor-dichter Areale zu einer Abschwächung der Morphinwirkung?
- c) Verändert sich die Stärke der "Morphinanalgesie", wenn NaCl durch intracerebroventrikuläre Applikation direkt an die Morphinrezeptoren im Bereich des Aquäduktes und des IV. Hirnventrikels gelangt?

E s w ä r e b e i B e s t ä t i g u n g d e r
A r b e i t s h y p o t h e s e z u e r w a r t e n ,
daß bei Erhöhung der NaCl-Konzentration in direkter Nachbar-
schaft wichtiger zentraler Wirkorte des Morphins (periventri-
kuläres Areal) die "analgetische" Wirksamkeit über eine ver-
schlechterte Bindung von Morphin abgeschwächt wird. Diese
örtlich begrenzte NaCl -Konzentrationserhöhung soll durch
Kochsalzinjektion direkt in das Ventrikelsystem erfolgen.
Von einer Injektion in das Nervengewebe wurde abgesehen,
da sich hierbei unübersehbare lokale Hirnläsionen nicht ver-
meiden lassen.

3. METHODIK UND MATERIAL

3.1 Lokalisation der zentralen "Analgesieorte"

Mit der Fragestellung, wo die "analgesievermittelnden" Opiat-rezeptoren lokalisiert sind, beschäftigten sich zahlreiche Arbeitsgruppen (25, 40, 54, 67, 68, 70, 90, 114).

Bereits 1964 konnte Tsou et al. (108) an Kaninchen zeigen, daß bei Morphininjektion in verschiedene Hirnareale eine mehr oder weniger starke "Analgesie" hervorgerufen werden kann. Aufgrund seiner Ergebnisse nahm er an, daß der Ort, der die "analgetische" Morphinwirkung vermittelt, im zentralen Grau um den 3. Ventrikel lokalisiert ist (108).

Herz et al (39) fanden an Kaninchen, daß bei Applikation von morphinähnlichen Drogen in den Aquaedukt und in den 4. Ventrikel eine komplette Hemmung der Schmerzreaktion resultierte. Die stärkste Wirkung wiesen Injektionen in die Fossa rhomboides und in benachbarte Strukturen auf. Durch autoradiographische Studien konnte die topographische Lage 1-2 mm in die Tiefe der Ventrikelwand angegeben werden.

Pert et al. (85) bezeichneten bei Primaten zwei Orte, die für die Vermittlung der "Analgesie" verantwortlich gemacht werden können: das periaquaeduktale-periventrikuläre Grau und die Kollateralen des neospinothalamischen Traktes (2, 12, 33, 72, 77, 85, 90).

Die Untersuchungen von van Ree (90) an Rattenhirnen stützen die vorangegangenen Beobachtungen.

Yaksh et al (114, 115) stimmt mit seinen Ergebnissen dahingehend überein, daß bei Ratten das periaquaeduktale Grau in Bezug auf morphininduzierte Antinociception eine der sensibelsten supraspinalen Hirnareale ist.

All diese Untersuchungen zeigen, daß die durch Morphin hervorgerufene "Analgesie" an mehreren benachbarten Orten im ZNS lokalisiert ist.

Man kann heute als gesichert annehmen, daß die größte Rezeptordichte unter dem Boden des rostralen Teils des IV. Hirnventrikels und um den caudalen Teil des Aquäduktes zu finden ist.

3.2. Intrazerebroventrikuläre und intrazerebrale Injektion

Eine seit vielen Jahren praktizierte Methode zur Applikation eines Wirkstoffes in die Nähe seines vermeintlichen oder gesicherten Angriffsortes im Gehirn ist die intrazerebrale bzw. intraventrikuläre Injektion (1, 10, 14, 25, 27, 28, 31, 36, 40, 42, 55, 57, 58, 64, 65, 70, 75, 88, 90, 91, 107, 109, 113, 114).

Diese Methodik wurde von zahlreichen Forschergruppen an unterschiedlichen Tierspezies erprobt und weiterentwickelt.

Besonders in der Morphinforschung war diese Methode äußerst hilfreich, um die zentralen Orte der Morphinwirkung und vor allem die "Analgesieorte" bei Ratten zu lokalisieren (40, 42, 55, 64, 108, 114).

Nach ICV Inj. in den lateralen Ventrikel wurde erwartet, daß die Substanz den caudalen Teil des Ventrikelsystems sehr rasch erreicht. Dies wurde bestätigt durch die Injektion gefärbter oder markierter Morphinlösungen (1, 39, 40). Kurz nach Injektion verschwanden die Substanzen aus dem Ventrikelsystem und breiteten sich über den caudalen Hirnstamm aus.

Um den Wirkort abzugrenzen wurden nun unterschiedliche Methoden verwandt. Applikation in separate Teile des Ventrikels mit und ohne Teilverschüsse und in definierte Hirnstrukturen (40). Kakunaga et al.(55) berichteten in ihrer Studie an weißen Mäusen über den Einfluß intracisternal applizierter Elektrolyte auf die schmerzlindernde Wirkung verschiedener Analgetika (Morphin, Meperidin, Ohton). Sie beschäftigten sich speziell auch mit dem Einfluß des Kalium- und Natriumions auf die oben genannten Analgetika. Auch Wu et al. (113) veränderten den intracisternalen NaCl-Spiegel bei Ratten und beobachteten die Auswirkungen auf den Blutdruck und die Herzfrequenz. Sie arbeiteten mit Konzentrationen von 0,43 - 3,4 Mol NaCl.

In der hier vorliegenden Arbeit wurde die intrazerebroventrikuläre Applikation zur Veränderung der Elektrolytkonzentration im Hohlraumssystem des ZNS benutzt.

In Zusammenhang mit der Morphinforschung konnte ich in der bereits aufgeführten Literatur keine Angaben zum Kochsalzgehalt intraventrikulär applizierter Lösungen bei Ratten finden.

In den Vorversuchen ging es deshalb darum, eine NaCl-Konzentration herauszufinden, die das Verhalten der Tiere nicht unspezifisch veränderte. (Siehe auch: Dosis-Ermittlung der Reagentien und Pharmaka 3.3.7.).

3.3 Eigene Untersuchungen

3.3.1 Versuchstiere, Tierhaltung und Vorbereitung

Versuchstiere waren 60 weibliche Lewisratten mit einem Ausgangskörpergewicht von ca. 200 Gramm (zentrale Versuchstieranstalt Bundesgesundheitsamt). Jeweils 5 Tiere wurden in einer Plexiglasbox (Makrolon, Typ 3) untergebracht. Die Tiere wurden in einem klimatisierten Raum mit 12-stündigem Tag-Nacht-Rhythmus, einer Raumtemperatur von $20 \pm 1^\circ\text{C}$ und einer Luftfeuchtigkeit von 50-70% gehalten, bei freiem Zugang zu Futter (pelletiertes Standardfutter Altromin 1314, Fa. Altromin GmbH/Lage) und Wasser.

Die Tierlieferung erfolgte in zwei Schüben zu je 30 Tieren. Die ersten 30 hatten ein Ausgangsgewicht von 167-205 Gramm. Die zweiten 30 wogen 167-190 Gramm.

Um die Tiere an die Versuchsbedingungen im "Analgesieversuch" zu gewöhnen, wurden die Ratten vor der Ventrikelkatheterimplantation zweimal wöchentlich auf eine Heizplatte von 58° Celsius gesetzt und die "Analgesie" gemessen, d.h. die Zeitspanne vom Berühren des Tieres mit der Heizplatte bis zum erstmaligen Lecken einer Hinterpfote (23). Die "Schmerzreaktion" wurde zu folgenden Zeitpunkten gemessen: Zwei Leerwerte, sowie 15, 30, 60, 120 Minuten nach geplantem Injektionszeitpunkt. Weitere Messungen waren nicht erforderlich, da die Tiere sehr konstante Meßwerte zeigten (Abb. 6, 7, 8). (Einzelmeßwerttabellen im Anhang: 1 - 12)

3.3.2. Operationsdurchführung

Zum Operationszeitpunkt hatten die Tiere ein Körpergewicht von 174 - 225 g. Das Durchschnittsgewicht lag bei 202 g.

³¹ ANALGESIEVERLAUF IM HEIZPLATTENTEST 58°C

1. TAG GRUPPE: A₁ - F₁ N = 29 TIERE

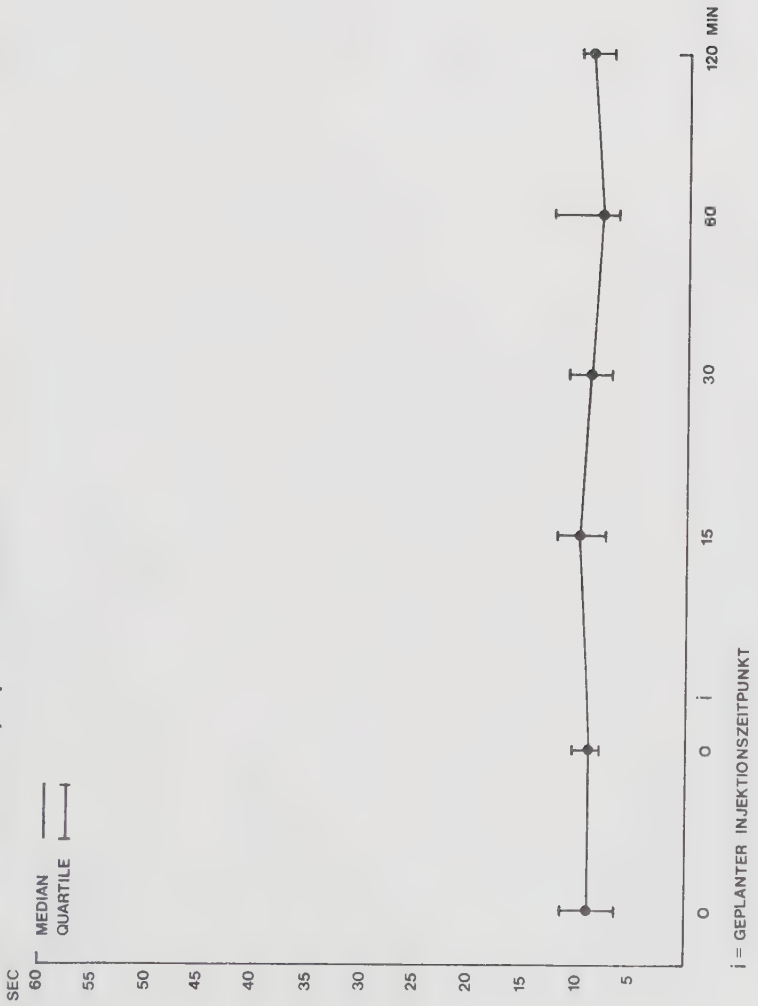


Abb. 6

"ANALGESIEVERLAUF IM HEIZPLATTENTEST 58°C

2. TAG GRUPPE: A₁-F₁ N = 29 TIERE



Abb. 7

¹¹ ANALGESIEVERLAUF IM HEIZPLATTENTEST 58° C
 3. TAG GRUPPE: A₁-F₁ N = 29 TIERE



Abb. 8

Die Operation wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Am 1. Tag 2 Käfige à 5 Tiere, am 2. Tag ebenfalls 2 Käfige à 5 Tiere und am 3. Tag 1 Käfig à 5 Tiere und einer à 4 Tiere.

Aus den zahlreichen in der Literatur beschriebenen Operationsverfahren (1, 10, 14, 36, 88) wählten wir dasjenige aus, das uns für die Tiere am schonendsten erschien und das bereits in früheren Untersuchungen im Institut erfolgreich angewandt worden war (26).

Die Ratten wurden mit 300 mg Chloralhydrat/kg KG, gelöst in 5ml 0,9% iger NaCl Lsg., durch intraperitoneale Injektion narkotisiert. Nach 5 Min. bestand eine ausreichende Narkosetiefe, um den Eingriff vorzunehmen. Nach Kopfrasur wurde das Tier im stereotaktischen Gerät (David Kopf) in der Horizontalebene fixiert. Es wurde ein Sagittalschnitt von ca. 1,5 cm Länge über der Sutura sagittalis durchgeführt. Durch Abschieben der Subcutanfascie und des Periosts nach den Seiten wurde die Kalotte freipräpariert und die Wundränder mit Wundhäkchen, die an Gummibändern fixiert waren, aufgespreizt. Durch diese Fixierung wurde die Kopfhaut über der Kalottenebene gehalten, so daß das Op - feld gut eingesehen werden konnte. Nach Spülung mit 0,9% iger NaCl Lsg. und Trockentupfen der Kalotte konnten die Schädelnähte dargestellt werden und die Sutura sagittalis und coronalis aufgesucht werden. Die Koordinaten für das Bohrloch des Lateralventrikels sind: 1mm lateral der Sagittalis und 0,5mm caudal der Coronalis (26, 34, 90) (Abb.9). Die Dura sollte bei der Trepanation unverletzt bleiben.

Insgesamt wurden 3 Löcher in die Kalotte präpariert, eines für den Ventrikelkatheter (Abb. 10) und zwei weitere zur Fixierung des Kathetersockels. Die Präparation wurde mit einem Dentalbohrer (HM 12, Fa. Meisinger, 1,2mm rund) durchgeführt. Das erste Bohrloch diente zur Punktion des Lateralventrikel. In die beiden anderen Bohrlöcher wurde jeweils eine Messingschraube (Optikerschraube 1,4 x 2,8mm) mit ca.

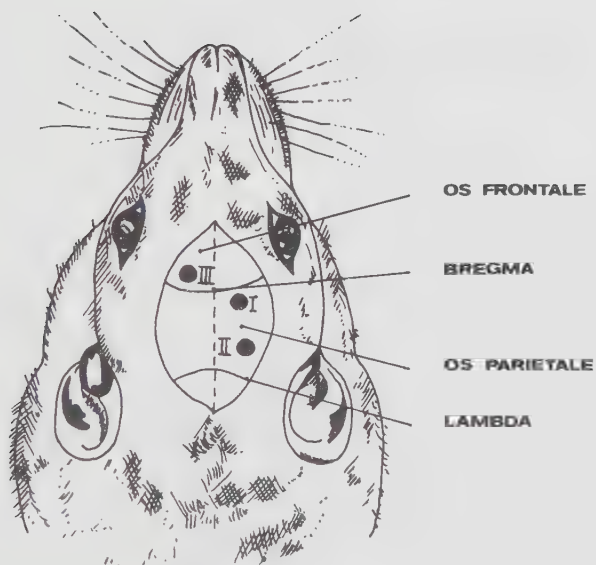


Abb. 9

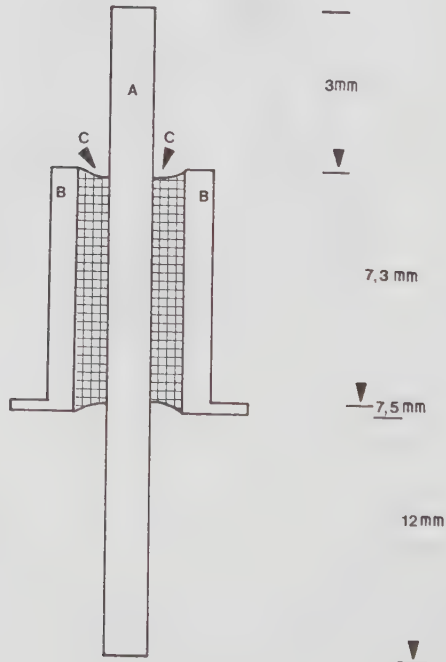
VENTRIKELKATHETER

M : 1 : 10

Kanüle: abgesägte Spritzenkanüle Nr. 2 (A)

Träger: Stahlhohniet (B)

Lötzinn (C)



2 Umdrehungen in die Schädelkalotte geschraubt. Nach Aufsuchen des ersten Bohrloches wurde die Dura mit einer feinen Injektionsnadel geschlitzt, der Ventrikelkatheter (mit einer Ventrikellänge von 4,5mm) senkrecht nach unten eingesetzt und sofort mit Palavit R Zahnzement (Fa. Kulzer) umgossen und mit den zwei Messingschrauben mittels Zementmasse fixiert. Nach einminütigem Härten konnte die Masse plastisch zu einem Sockel über den Schraubenköpfen und um die Kanüle geformt werden.

Die Tiere wurden nach Op-Tagen randomisiert und nach einer Erholungsphase von einer Woche (90) in den Versuch genommen.

3.3.3 Versuchsplanung

Um annähernd gleiche Versuchsbedingungen in den einzelnen Gruppen zu erhalten, wurde die Durchführung als Longitudinalversuch geplant.

Die Versuche wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt.

Die einzelnen Tiere in einem Käfig erhielten unterschiedliche Substanzen, jedoch wurden alle Käfige in sich gleich behandelt (siehe Abb. 11). Das bedeutet, daß jedes 1. Tier pro Käfig die gleiche Substanz zum gleichen Versuchszeitpunkt erhält, Tier 2., 3., 4., 5. entsprechen sich pro Käfig ebenfalls. So erhalten pro Tag die Tiere in einem Käfig unterschiedliche Substanzen. Bei der Auswertung werden jeweils alle 1., 2., 3., 4., 5. Tiere der einzelnen Käfige zu einer homogenen (in sich gleich behandelten Gruppe) zusammengefaßt.

Damit unterlag jede Auswertungsgruppe den gleichen Versuchsbedingungen. Das heißt, die äußeren Störeinflüsse gehen gleichmäßig in die Auswertung ein, da in jeder Gruppe Tiere aller Op-Tage und Versuchstage enthalten waren.

SKIZZE ZUM LONGITUDINALVERSUCH

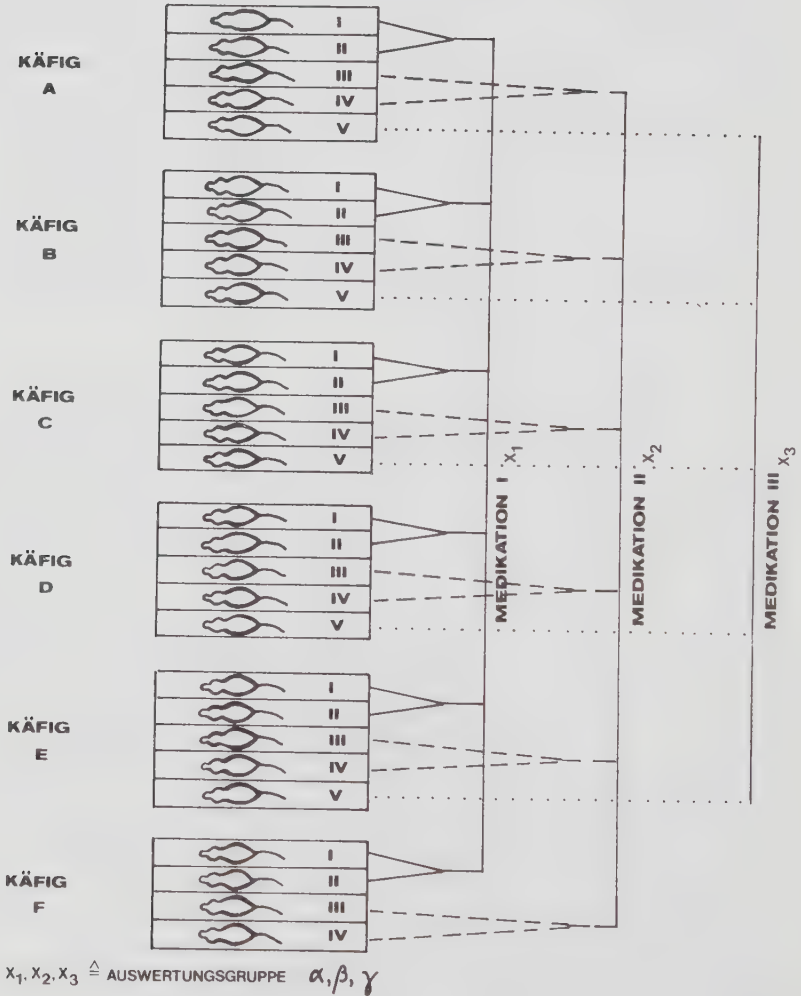
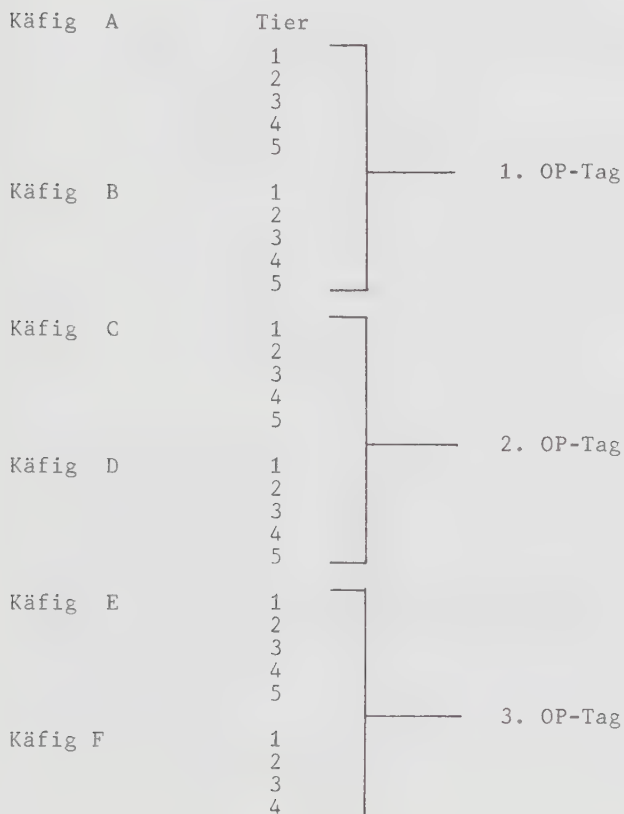


Abb. 11

Käfig F bestand nur aus 4 Tieren, da die Tierzucht nur 29 Tiere lieferte. Genaue Behandlung der Tiere folgt im Text und in den weiteren Abbildungen.

3.3.4 Gruppeneinteilung



Gruppenaufteilung als Longitudinalversuch

Auswertungsgruppe	α	A1,A2,B1,B2,C1,C2,D1,D2,E1,E2,F1,F2
"	β	A3,A4,B3,B4,C3,C4,D3,D4,E3,E4,F3,F4
"	γ	A5,B5,C5,D5,E5

Aufgrund dieser Aufteilung wurden alle Tiere pro Käfig wie folgt behandelt.

3.3.5 Tierbehandlung

Tier 1 + 2 erhielten akut 12,5 mg Morphin/kg KG/5ml H₂O
subcutan + 10 µl einer 0,8
molaren Saccharoselösung
in H₂O intrazerebroventri-
kulär (≙ Auswertungsgruppe α)

Tier 3 + 4 erhielten akut 12,5 mg Morphin/kg KG/5ml H₂O
subcutan + 10 µl einer 0,5
molaren NaCl-Lösung in H₂O
intrazerebroventrikulär
(≙ Auswertungsgruppe β)

Tier 5 erhielt akut 12,5 mg Morphin/kg KG/5ml H₂O
subcutan + intrazerebro-
ventrikuläre Scheininjektion³⁾
(≙ Auswertungsgruppe γ)

Gestaffelt nach den Operationstagen wurden an 3 aufeinander-
folgenden Tagen die Tiere zweier Käfige wie oben aufgeführt
behandelt.

1. Tag Käfig A+B

2. Tag Käfig C+D

3. Tag Käfig E+F

Die Ratten der zweiten Lieferung wurden bis zum Versuchstag
gleich behandelt wie die der ersten. Danach erhielt jedes
Tier im Käfig folgende Injektionen:

³⁾ Die Scheininjektion wurde folgendermaßen durchgeführt:
Die Injektionsspritze wurde in den Ventrikelkatheter einge-
führt, jedoch bekamen die Tiere keinerlei Substanz appli-
ziert.

Tier 1 + 2 erhielten $\emptyset$ Morphin

10 μ l einer 0,8 molaren Saccharose-
lösung in H_2O intrazerebroventrikulär
(Δ Auswertungsgruppe δ)

Tier 3 + 4 erhielten $\emptyset$ Morphin

10 μ l einer 0,5 molaren NaCl-Lösung
in H_2O intrazerebroventrikulär
(Δ Auswertungsgruppe ϵ)

Tier 5 erhielt 12,5 mg Morphin/kg KG/5ml H_2O +
intrazerebroventrikuläre Scheinin-
jektion
(Δ Auswertungsgruppe ζ)

Hieraus ergibt sich eine Gruppeneinteilung wie bei der ersten Tierlieferung zu den Auswertungsgruppen δ, ϵ . Die 3. Auswertungsgruppe (ζ) wurde mit den Tieren der Auswertungsgruppe δ zusammengefaßt. Dies ist zulässig, da die äußeren Einflüsse beider Gruppen annähernd gleich waren und deshalb vernachlässigt werden können.

3.3.6 In den Versuchen verwandte Geräte, Substanzen, Pharmaka und Reagentien

Zur Operationsdurchführung wurden die Tiere nach der Narkotisierung in einem stereotaktischen Gerät - David Kopf (geliefert durch Firma Heinz Albrecht Instrumente) fixiert.

Die "Analgesiemessung" erfolgte mit dem Heizplattentest "Hot-plate" der Fa. Heinz Albrecht Instrumente.

Die intrazerebroventrikuläre Injektion wurde mit einer Mikrospritze der Fa. Kloehe (Vol. 10 μ l) vorgenommen. Die dazugehörige Injektionsnadel wurde auf die Länge der implantierten Kanüle gekürzt, damit sie gerade bis in den

Ventrikel vorgeschoben werden konnte. Mikroliterspritze Fa. Kloehn, 10 μ l RN Best. Nr. 1010. Die dazugehörigen Kanülen der Fa. Kloehn, Spritzentyp A, Best. Nr. 265. Ventrikelkatheter (freundlicherweise hergestellt von Herrn A. Schulz, BGA) Gesamtlänge 12mm, Ventrikellänge 4,5mm. Die Schrauben zur Fixierung des Ventrikelkatheters waren Messingschrauben DIN 48 MS, M 1,4 x 2,8.

Zur Kalottentrepanation wurde ein Zahnarztbohrer der Fa. Meisinger, HM 012, rund, verwandt.

Die Fixierung des Katheters an die Kalotte bzw. an die zwei Schrauben erfolgte mit Palavit 55 Kunststoff Kaltpolymerisat der Fa. Kulzer.

Zur Versuchsdurchführung wurden folgende Reagentien und Pharmaka verwandt.

Die Tiere wurden mit Chloralhydrat (Art 2425 der Fa. Merck/Darmstadt) mittels einer intraperitonealen Inj. narkotisiert. Die "Analgesie" wurde mit Morphin-Hydrochlorid der Fa. Merck bei subcutaner Injektion hervorgerufen. Zur Veränderung der intrazerebroventrikulären Elektrolyte wurde NaCl (Kristalle Art. 6404 der Fa. Merck) und als Vergleichslösung Saccharose (Art. 7651 der Fa. Merck) verwandt. Das Chloralhydrat wurde in 0,9% iger NaCl Lsg., Morphin, NaCl und Saccharose in aqua bidestilata gelöst.

3.3.7 Dosisermittlung der Reagentien und Pharmaka

In der gesamten Literatur über zerebroventrikuläre Injektionen bei Ratten konnte ich nur eine einzige Konzentrationsangabe über die Inj. von NaCl in das Ventrikelsystem finden (113). In den Vorversuchen mußte ich deshalb zunächst herausfinden, welche Kochsalzkonzentration injizierbar war, ohne daß die Tiere vor allem unspezifische Nebenwirkungen zeigten, die die "Analgesiemessung" beeinflussen könnten.

An einem separaten Tierkollektiv von 23 Lewis Weibchen mit

einem Gewicht von 200 - 250 g wurden die injizierbaren NaCl-Konzentrationen geprüft.

Nach anfänglicher Inj. einer hochkonzentrierten 6 molaren NaCl zeigten die Tiere erhebliche Nebenwirkungen wie: Störungen der Bewegungskoordination, Drehbewegungen nach links, die Tiere lagen 1/2 Min am Boden, um dann erneut Aufstehversuche zu unternehmen, Verwirrung, Streckkrämpfe, seitliches Umkippen. Erst nach einer 5-minütigen Erholungsphase verhielten sich die Tiere wieder unauffällig. Daraufhin wurde die NaCl-Konz. schrittweise verdünnt und erneut verabreicht. Auch bei einer 4 molaren Konz. zeigten die Tiere Nebenwirkungen wie Krämpfe der Extremitäten, Hochspringen und Lautäußerungen auf, was zu einer weiteren Verdünnung veranlaßte. Die Tiere zeigten keine sichtbaren Nebenwirkungen bei einer Konz. von 0,5 Mol/l NaCl (Δ 29 g NaCl/l H_2O). Da die Tiere schon häufiger Injektionen erhalten hatten, wurde die ermittelte NaCl-Konz. erneut an einem weiteren Tierkollektiv von 20 Ratten überprüft. Diesmal zeigte sich, daß die ermittelte Konz. auch bei wiederholter Gabe bei keinem Tier sichtbare Nebenwirkungen aufwies. Für die künftige Versuchsdurchführung wurde diese Konz. als geeignet angesehen.

Als Vergleichslösung zur Kochsalzinjektion erhielten die Tiere eine zur NaCl-Lsg. isoosmotische Saccharoselösung (Ermittlung der Konz. mittels Osmometer: 273, 8 g Saccharose/l H_2O).

Die Morphinkonzentration von 12,5 mg/kg KG/5ml H_2O wurde in zahlreichen vorangegangenen Versuchen im Arzneimittelinstitut des Bundesgesundheitsamtes (AIB) ermittelt.

3.3.8 Durchführung der Versuche

Die analgetische Wirksamkeit der applizierten Substanzen wurde im Heizplattentest gemessen. Vor der Operation wurde die "Analgesiezeit" bei sämtlichen Tieren ermittelt, ohne daß die Tiere eine Inj. erhalten hatten oder irgendeiner Behandlung unterlagen. Diese Werte dienten zur Ermittlung der normalen Reaktionszeit der Tiere. An drei Tagen wurden die Werte ermittelt, bis alle Tiere eine brauchbar kurze Reaktionszeit aufwiesen und diese "Trainingsphase" abgeschlossen werden konnte. (Siehe Abb. 12, 13, 14). (Einzelwertetabellen im Anhang: 13 - 24)

Jedes Tier wurde nur einmal in den Versuch genommen. Vor der intrazerebroventrikulären Inj. wurde der Ventrikelskatheter mit einer Injektionsnadel von gleicher Länge wie der Katheter auf Durchgängigkeit geprüft.

Wie in den Vorversuchen wurden die Meßzeitpunkte auf folgende Zeiten festgelegt: 0-Wert, 15, 30, 45, 60, 90, 120 Min. nach Morphininjektion.

Man soll sich max. auf 7 Meßzeitpunkte pro Tag beschränken, da sonst die Gefahr besteht, daß die Fußsohlen der Tiere Schaden erleiden und dadurch die Meßwerte verfälscht werden. Bei sämtlichen Tieren wurden nach Beendigung des Versuches die Fußsohlen inspiziert.

Es wurde die Dauer bis zur Auslösung der Schmerzreaktion ohne Medikation bestimmt (= 0-Wert), danach erfolgte unmittelbar nacheinander:

1. die Morphininjektion,
2. die ICV-Injektion.

Anschließend Prüfung der Reiz-Reaktions-Dauer auf der Heizplatte 15, 30, 45, 60, 90, 120 Min. nach Applikation der genannten Substanzen.

"1" ANALGESIEVERLAUF IM HEIZPLATTENTEST 58°C
1. TAG GRUPPE: A₂ - F₂ N = 30 TIERE



Abb. 12

¹¹⁾ ANALGESIEVERLAUF IM HEIZPLATTENTEST 56° C
2. TAG GRUPPE: A₂ - F₂ N = 30 TIERE



Abb. 13

³¹ ANALGESIEVERLAUF IM HEIZPLATTENTEST 58 ° C
 3. TAG GRUPPE: A₂ - F₂ N = 30 TIERE



Abb. 14

Die maximale Zeitspanne, die die Tiere ohne Schädigung auf der Heizplatte verbringen können, beträgt 60 Sek.. Aus diesem Grunde ist der maximal zu ermittelnde Meßwert in sämtlichen Versuchen auf 60 Sek. festgelegt worden.

3.3.9 Kontrolle des Kathetersitzes

Nach Versuchsabschluß erhielten alle Tiere eine verdünnte Evans-Blau-Lösung intrazerebroventrikulär, um den Kathetersitz zu kontrollieren. Die Ratten wurden dekapitiert, das Gehirn freipräpariert und über 36 Stdn. in 37% iger Formaldehydlösung fixiert. Nach der Farbstoffverteilung im Gehirn konnten Rückschlüsse auf den Kathetersitz erfolgen.

Bei 11 Tieren, d.h. 19 %, endete die Katheterspitze nicht im Ventrikel, sondern durchstieß den Ventrikelboden. Die Werte dieser Tiere mußten nachträglich ausgesondert werden. (Bei diesen Tieren handelte es sich vermutlich um besonders kleine Tiere).

3.3.10 Statistische Methoden

Von den ermittelten Werten folgender Meßzeitpunkte: 30, 45, 60, 90 Min. post Injektionen wurde jeweils der Median gebildet und nach dem Wilcoxon-Test (111) für unabhängige Stichproben und dem darauf basierenden Rangtest von Mann und Whitney (1947) einseitig auf Signifikanz geprüft.

Der U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney prüft die Hypothese, ob zwei Beobachtungsreihen einer Grundgesamtheit entsprechen, oder verwirft diese Hypothese (Nullhypothese). Dieser Test ist empfindlich gegenüber Medianunterschieden.

Der Median wurde wie folgt ermittelt: Zu jedem einzelnen Meßzeitpunkt (0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 Min.) wurden die Werte der Tiere in eine aufsteigende Rangfolge gebracht. Bei n Beobachtungen ist der Median der Wert desjenigen Tieres mit dem

Rang $\frac{n}{2} + \frac{1}{2}$ (bei ungeradem n)

bzw. bei geradem n der Mittelwert der Tiere mit den Rängen

$$\frac{n}{2} \quad \text{und} \quad \frac{n}{2} + 1$$

Die Quartile wurde zu jedem Meßzeitpunkt in die Kurven eingefügt.

Zur Berechnung der Prüfgröße U bringt man die $(m+n)$ Stichprobenwerte in eine gemeinsame aufsteigende Rangfolge, wobei zu jeder Rangzahl vermerkt wird, aus welcher der beiden Stichproben der zugehörige Wert stammt. Die Summe der auf Stichprobe 1 entfallenden Rangzahlen sei R_1 , die Summe der auf Stichprobe 2 entfallenden Rangzahlen sei R_2 . Dann berechnet man (I.) und kontrolliert die Rechnung nach (II.).

$$U_1 = mn + \frac{m(m+1)}{2} - R_1$$

I.

$$U_2 = mn + \frac{n(n+1)}{2} - R_2$$

$$U_1 + U_2 = mn$$

II.

Die gesuchte Prüfgröße ist die kleinere der beiden Größen U_1 und U_2 . Die Nullhypothese wird verworfen, wenn der berechnete U -Wert kleiner oder gleich dem kritischen Wert zu m, n in der dazugehörigen Tabelle (111) zur vorgegebenen Signifikanz α ist. Statistische Signifikanz wurde bei einem $\alpha = 0,05$ festgelegt und in der Kurve mit einem * gekennzeichnet.

4. ERGEBNISSE

4.1 Ergebnisse der einzelnen Auswertungsgruppen

4.1.1 Gruppe mit Behandlungsart

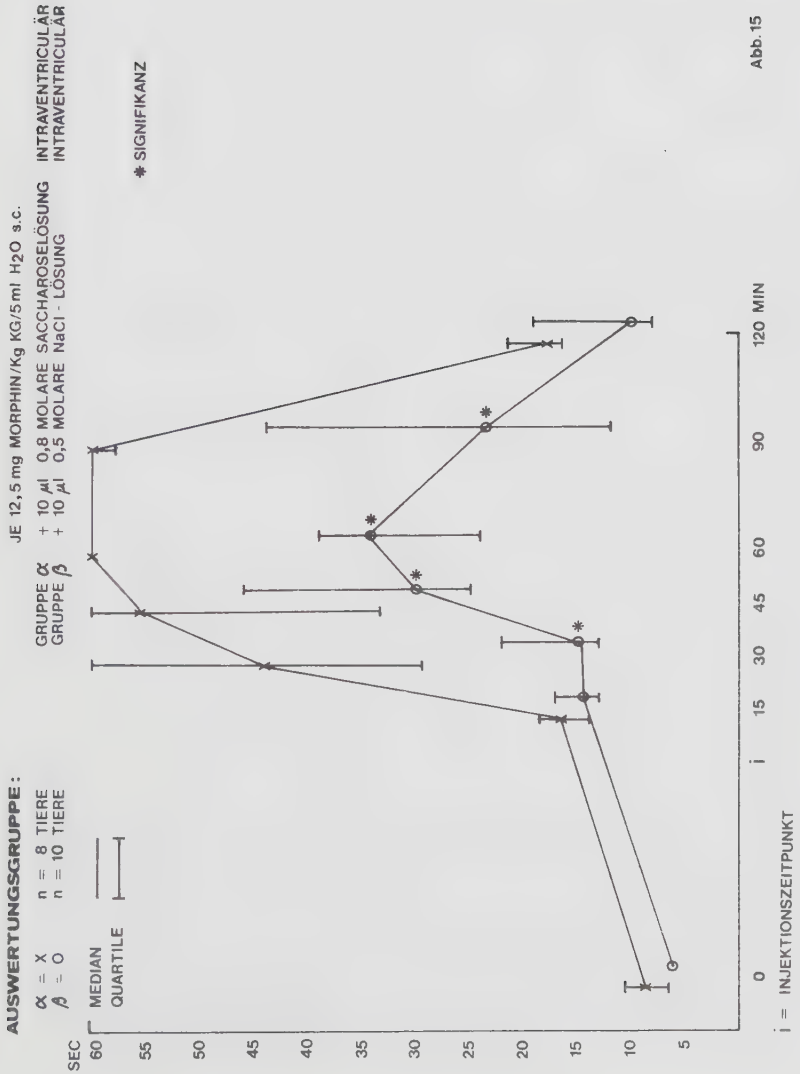
Gruppe α	Morphin s.c.	+	Saccharose ICV
" β	" "	+	NaCl "
" γ	" "	+	Pseudoinjektion ICV
" δ	Saccharose ICV		
" ϵ	NaCl ICV		

4.1.1.1 Gruppe α ("Morphin Saccharose"-Gruppe)

Bei der Tiergruppe, die Morphin und Saccharose erhalten hatte (Abb. 15), zeigte sich bereits zum Zeitpunkt 30 Min. nach Morphin + Saccharoseinj. eine deutliche Morphinwirkung im Hinblick auf die "Analgesie" (Median: 44 Sek.). Das heißt, die Tiere leckten sich zu einem späteren Zeitpunkt die Hinterläufe im Vergleich zum Kontrollwert. Die Morphinwirkung erreichte ihr Maximum nach 60 Min.. Der Median betrug zu diesem Zeitpunkt 60 Sek.. Dieser Wert hielt 90 Min. lang an. Bereits 30 Min. später, nach 120 Min. konnte man einen starken Abfall der Morphinwirkung bis auf Werte vergleichbar denen zum Zeitpunkt 15 Min. verzeichnen (Median: 18 Sek.). (Einzelwertetabellen im Anhang: 25)

4.1.1.2 Gruppe β ("Morphin NaCl"-Gruppe)

Die Tiere, die Morphin + NaCl erhalten hatten (Abb. 15), zeigten nach 30 Min. noch Meßwerte zwischen 10 und 20 Sek.. Die Werte waren gleich denen zum Zeitpunkt 15 Min. (Median: 15 Min.: 14,5 Sek., 30 Min.: 14,5 Sek.). Eine deutliche Morphinwirkung war zum Zeitpunkt 45 Min. sichtbar (Median: 34,5 Sek.).



Nach 90 Min. war die Wirkung schon wieder deutlich abgefallen (Median: 23,5 Sek.), um nach 120 Min. Werte vergleichbar mit den 0-Werten zu erreichen (Median: 10 Sek.).

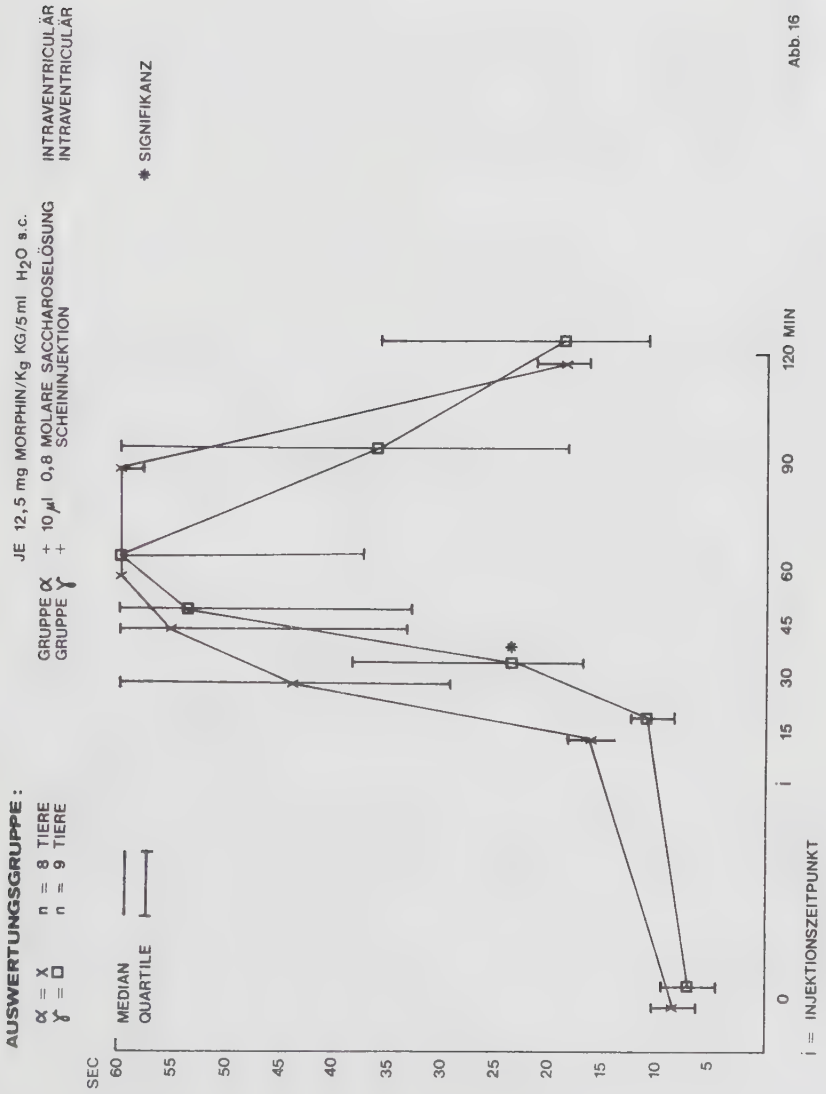
Bei dieser Tiergruppe fiel auf, daß die Morphinwirkung zu einem späteren Zeitpunkt einsetzte und bei ihrem Maximum nur eine leichte, wenn auch deutliche "Morphinanalgesie" zu verzeichnen war. Der Median zu diesem Zeitpunkt lag bei 34,5 Sek.. Bei Tieren, die nur Morphin erhalten hatten (Werte aus zahlreichen früheren Untersuchungen des Instituts AIB) war zu diesem Zeitpunkt ein Median von 60 Sek. zu verzeichnen. (Einzelwertetabellen im Anhang: 26).

Das heißt, zu diesem Zeitpunkt war eine signifikante Abschwächung der Morphinwirkung im Vergleich zu den Tieren, die Saccharose ICV injiziert erhalten hatten.

4.1.1.3 Gruppe γ ("Morphin Scheininjektions"-Gruppe)

Zum Zeitpunkt 30 Min. konnte erst eine geringe Morphinwirkung festgestellt werden (Median: 23 Sek.) (Abb. 16). Jedoch nach 45 Min. konnte man von einer starken "Morphinanalgesie" sprechen (Median: 54 Sek.), die ihr Maximum zum Zeitpunkt 60 Min. erreichte (Median: 60 Sek.). Diese Wirkung fiel nach 90 Min. deutlich ab (Median 36 Sek.) und erreichte zum Zeitpunkt 120 Min. näherungsweise Meßwerte wie zum Zeitpunkt 30 Min. (Median: 19 Sek.).

Bei dieser Tiergruppe zeigte sich die Maximalwirkung zum gleichen Zeitpunkt wie bei den Tieren, die nur Morphin erhalten hatten (frühere Untersuchungen des AIB). Der Median lag bei 60 Sek., das heißt, beim max. zu ermittelnden Wert. Nach 120 Min. war der Ausgangswert noch nicht wieder erreicht, jedoch konnte man nur noch von einer sehr schwachen "analgetischen" Morphinwirkung sprechen (Einzelwertetabellen im Anhang: 27).



AUSWERTUNGSGRUPPE :

β = 0
 γ = 1

$n = 10$ TIERE
 $n = 9$ TIERE

GRUPPE β
 GRUPPE γ

JE 12,5 mg MORPHIN/kg KG/5ml H₂O s.c.
 + 10 μ l 0,5 MOLARE NaCl-LÖSUNG
 + SCHNITTINJEKTION

INTRAVENTRICULÄR
 INTRAVENTRICULAR

* SIGNIFIKANZ

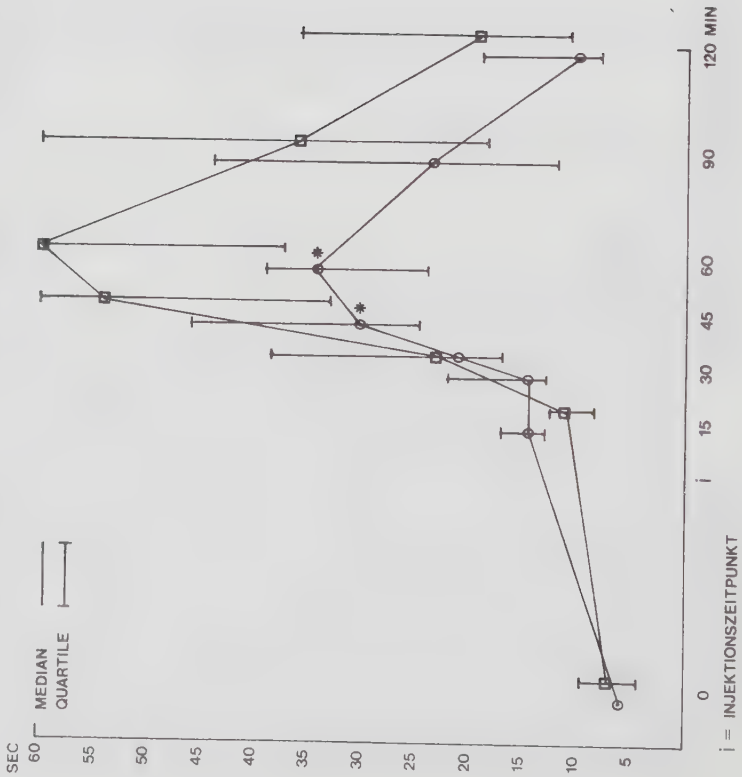


Abb. 17

4.1.1.4 Gruppe δ ("Nur Saccharose"-Gruppe)

Diese Gruppe diente als Kontrollgruppe (Abb. 18) und zwar um eine Eigenwirkung der ICV Inj. von Saccharose auszuschließen. Die "Analgesiezeit", die nach der Applikation gemessen wurde, zeigte über einen Zeitraum von 120 Min. keine abweichenden Werte vom 0-Wert (Einzelwertetabellen im Anhang: 28).

4.1.1.5 Gruppe ϵ ("Nur NaCl"-Gruppe)

Auch die Gruppe ϵ diente als Kontrollkollektiv (Abb. 18), um Eigenwirkungen der injizierten NaCl-Lsg. auszuschließen. Diese Gruppe zeigte ebenfalls über einen Zeitraum von 120 Min. Meßwerte wie bei der 0-Wertmessung, das heißt, es wurde keine Veränderung der "Analgesiezeit" nach alleiniger ICV NaCl.-Inj. festgestellt (Einzelwertetabellen im Anhang: 29).

4.1.2 0-Wertbestimmung

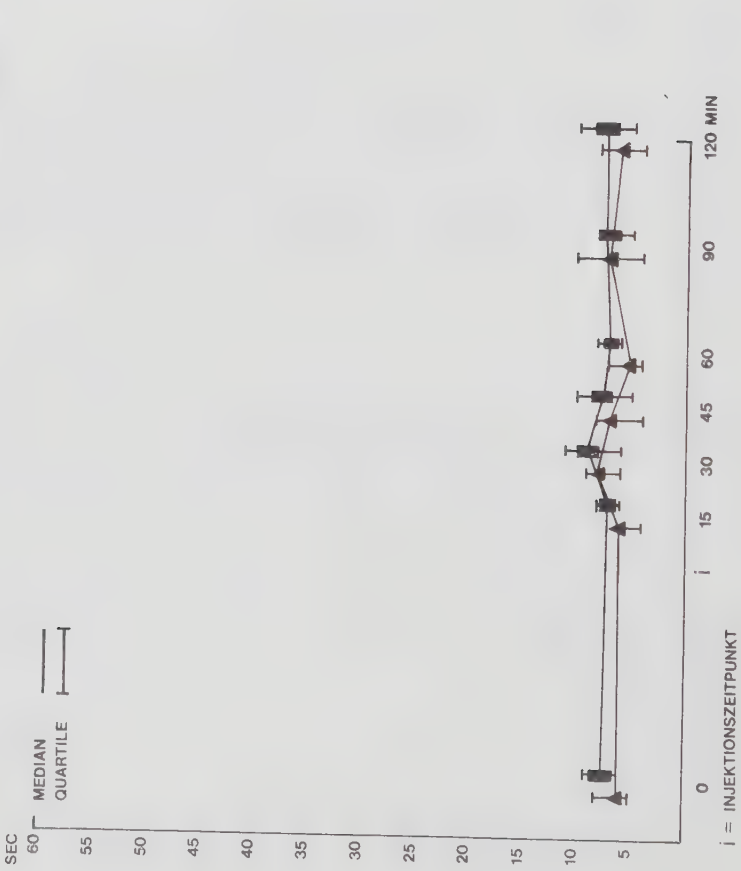
Als Kontrollwert, ob die Tiere nach der Op und vor der Injektion der einzelnen Substanzen abweichende "Analgesiewerte" von den Trainingswerten zeigten, diente der jeweilige 0-Wert der einzelnen Gruppen.

Es zeigte sich kein Unterschied in den 0-Wertmessungen der einzelnen Gruppen und auch keine Wertedifferenzen im Vergleich zu den Trainingswerten vor der Op. (Siehe 0-Werte der einzelnen Gruppen im Anhang).

AUSWERTUNGSGRUPPE :

δ = ▲ $n = 11$ TIERE
 ξ = ■ $n = 10$ TIERE

MEDIAN
 QUARTILE



INTRAVENTRICULÄR
 INTRAVENTRICULÄR

GRUPPE δ 10 μl 0,8 MOLARE SACCAROSELÖSUNG
 GRUPPE ξ 10 μl 0,5 MOLARE NaCl-LÖSUNG

Abb. 18

5. DISKUSSION

Über den Einfluß von Natrium auf die Opiatrezeptorbindung wurde bereits in zahlreichen Studien berichtet (32, 47, 69, 83, 86, 87, 96, 97, 100).

Im Zusammenhang mit der hier vorliegenden Arbeit ging es hauptsächlich darum, ob die in-vitro-Studien, die über die zentrale Rolle des Na⁺ für die Morphin-Bindung am Rezeptor berichteten, durch in-vivo-Studien bekräftigt werden können.

Im Folgenden sollen die Ergebnisse der einzelnen Auswertungsgruppen miteinander verglichen werden.

5.1 Vergleich der Auswertungsgruppen

5.1.1 "Morphin NaCl" im Vergleich zu "Morphin Schein-injektion"

Beim Vergleich der Tiergruppe, die Morphin und NaCl erhalten hat mit derjenigen, die mit Morphin und einer Scheininjektion (Abb. 17) behandelt worden war, konnte man folgendes feststellen: Bei der Scheininjektionsgruppe war zum Zeitpunkt 45 Min. eine volle Morphinwirkung zu registrieren (Median: 54 Sek.), wohingegen die NaCl-Gruppe zu den oben genannten Tieren signifikante Meßwertunterschiede aufwies. Bei der NaCl-Gruppe betrug der Median nach 45 Min. nur 30 Sek.. Nach 60 Min. erreichte die "Nur Morphin"-Gruppe ihr Maximum (Median: 60 Sek.) und hiermit auch den maximalen Wert auf der hot-plate. Die NaCl-Gruppe erreichte zu diesem Zeitpunkt nur einen Medianwert von 34,5 Sek..

Im absteigenden Schenkel der Kurven konnte man nach 90 Min. eine deutliche Annäherung der Meßwerte registrieren. Obwohl zu diesem Zeitpunkt und auch noch nach 120 Min. die Werte der NaCl-Gruppe immer noch niedriger lagen, als diejenigen der Scheininjektionsgruppe.

Bereits aus diesen Ergebnissen geht eindeutig hervor, daß das Kochsalz bei intrazerebroventrikulärer Verabreichung einen nachweislichen Einfluß auf die Stärke der "Morphinanalgesie" hat.

Da es sich bei der Scheininjektionsgruppe aber um Tiere handelte, die lediglich Morphin erhalten haben, soll im weiteren ein Vergleich zweier Tiergruppen erfolgen, die beide Morphin s.c. und eine der Kochsalzlösung isoosmotische Lösung ICV erhalten haben.

5.1.2 "Morphin NaCl" im Vergleich zu "Morphin Saccharose"

Im Zeitraum zwischen 30-90 Min. konnte man signifikante Meßwertunterschiede registrieren. Da aber die Saccharosegruppe zur Scheininjektionsgruppe (siehe nächster Abschnitt) zum Zeitpunkt 30 Min. einen signifikanten und nach 90 Min. einen deutlichen Unterschied aufwies, konnte man nur die Werte 45 und 60 Min. zum Vergleich der beiden oben genannten Gruppen heranziehen. Zu diesem Zeitpunkt war eine Übereinstimmung zwischen der Saccharose- und der Scheininjektionsgruppe vorhanden. Zwischen der Saccharose- und der NaCl-Gruppe konnte jedoch zu diesem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied registriert werden. Die Saccharosegruppe erreichte nach 45 Min. einen Median von 55,5 Sek., die Kochsalzgruppe nur einen von 30 Sek. Nach 60 Min. betrug für die Saccharosegruppe die Reaktionszeit auf der hot-plate 60 Sek., wogegen die NaCl-Gruppe lediglich einen Median von 34,5 Sek. erreichte. Diese signifikanten Meßwertunterschiede im aufsteigenden Kurvenschenkel zeigen an, daß das ICV verabreichte NaCl einen deutlich abschwächenden Einfluß auf die einsetzende "Morphinanalgesie" hat. Es handelt sich hierbei nicht um unspezifische osmotische Einflüsse auf die "Morphinanalgesie" da die Saccharosegruppe eine Injektionslösung von gleicher osmotischer Stärke wie die NaCl-Gruppe erhielt. Inwieweit aber der Zucker selbst in Verbindung mit Morphin

Einflüsse auf die "Analgesie" aufweist, müßte durch einen weiteren Vergleich geklärt werden.

5.1.3 "Morphin Saccharose" im Vergleich zu "Morphin Scheininjektion"

Beide Gruppen erlangten nach 60 Min. die max. meßbare Morphinwirkung von 60 Sek. und erreichten auch gleiche Werte (18 und 19 Sek.) zum letzten Meßzeitpunkt (120 Min). Jedoch fielen sowohl im auf-, als auch im absteigenden Schenkel Meßwertunterschiede auf. Zum Zeitpunkt 30 Min. wies die Saccharosegruppe einen Median von 44 Sek. auf, die Scheininjektionsgruppe aber nur von 23 Sek.. Nach 90 Min. war ebenfalls eine deutliche, wenn auch nicht signifikante Differenz der beiden Gruppen zu bemerken. Hieraus kann man ableiten, daß auch die Saccharose einen Einfluß auf die Morphinwirkung hat. In wie weit es sich hier um einen osmotischen Effekt handelt, muß dahingestellt bleiben. (Vergl. auch Abschnitt: Ioneneffekt und Saccharosewirkung). Daß die Saccharose und das Kochsalz selbst keine "analgetische" und auch sonst keine Wirkung hatten, konnten wir deutlich an zwei separaten Tiergruppen zeigen, die ausschließlich diese Substanzen intrazerebroventrikulär erhielten.

5.1.4 "Nur Saccharose" im Vergleich zu "Nur NaCl"

Über den gesamten Meßzeitraum zeigten diese beiden Auswertungsgruppen Werte, die denen ohne jegliche Medikation entsprachen.

Dies war auch zu erwarten, denn Kakunaga et al. (55) hatten bereits an Mäusen gezeigt, daß nach intracisternalen Gabe von Kationen wie Mg^{++} , Ba^{++} , Sr^{++} , Zn^{++} , Fe^{++} , Al^{++} und auch K^+ und Na^+ kein analgetischer Effekt ausgelöst werden kann.

Allerdings war auch kein Einfluß auf die "analgetische" Wirkung des Morphins festzustellen, weder bei K^+ , noch bei Na^+ und den anderen zuvor genannten Kationen. Sie fanden jedoch einen auffälligen unterdrückenden Effekt der "Morphinanalgesie" durch Ca^{++} . Im Gegensatz dazu erhöhten decalcifizierende Agentien wie Ethylenediaminetetraacetic acid · 2Na, Na-Citrat die "analgetischen" Effekte von subcutan oder intracisternal gegebenen Morphin, Meperidin und Ohton.

In den zahlreichen Studien, die sich mit der Na^+ -Wirkung auf die Opiatrezeptorbindung beschäftigen und auch in der hier vorliegenden Arbeit geht aber eindeutig hervor, daß Ionen und speziell das Kochsalz einen deutlichen Einfluß auf die Morphinmechanismen hat.

Geht man davon aus, daß durch eine Erhöhung der NaCl-Konz. in vitro das Gleichgewicht am Opiatrezeptor

Agonist $\longleftrightarrow$ Antagonist

in Richtung verstärkte Antagonistenbindung verschoben wird (86, 96), so ist auch verständlich, daß bei akuter Veränderung des Elektrolytangebotes durch Senkung der NaCl-Konz. die Morphinwirkung verstärkt und bei erhöhter NaCl-Konz. am Rezeptor die Morphinwirkung vermindert wird. Für diese Hypothesen sprechen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit. So wurde erstmals in-vivo nachgewiesen, daß bei Verabreichung von NaCl in das Ventrikelsystem die Stärke der "Morphinanalgesie" signifikant herabgesetzt werden kann. Daß der "Natriumeffekt" auch in-vivo eine Rolle spielt, hatten ja bereits die Studien von Chu, Klemp und Stille (16) und anderer Arbeitsgruppen des AIB (31, 73, 105) vermuten lassen. Die Ergebnisse von Liermann (73), der den Naloxon-induzierten Morphinentzug bei Vorbehandlung mit Diuretika untersuchte, brachten einen weiteren Hinweis auf einen "Natriumeffekt". Auch die Forschungsergebnisse von El'Tsova et al. (109) unterstreichen den "Natriumeffekt". Sie registrierten eine Verminderung der "Morphinanalgesie" bei Vorbehandlung mit einem natriumretinierenden Aldosteronanalogen Desoxycorticosteronacetat(DOCA).

5.2 Beurteilung der eigenen Ergebnisse

Ob nun dieser "Natriumeffekt" durch Affinitätsveränderungen der Rezeptoren über allosterische Veränderungen der Morphinrezeptoren zustande kommt oder durch Anstieg der Zahl der Bindungsstellen, wie sie Pert & Snyder (83, 86) postulierten, kann durch diese Studie nicht entschieden werden.

Die vorliegende Untersuchung zeigt zwar deutlich, daß durch Veränderung der intrazerebroventrikulären NaCl-Konz. die "analgetische" Stärke des Morphins beeinflusst werden kann; worauf aber diese Veränderungen beruhen, kann nur vermutet werden.

Um diese Vermutungen zu klären, bedarf es in jedem Fall weiterer Untersuchungen, die sich mit der Rezeptorbindung beschäftigen.

Unklar ist noch die Bedeutung der Natriumgewebskonzentration im physiologischen Bereich. Es wird jedoch angenommen, daß Na^+ auf der Stufe von Opiatbindung oder Endorphinbindung und nachfolgender chemisch-physikalischer Zellantwort eine Rolle spielen könnte (100, 101).

5.3 Ioneneffekt und Saccharosewirkung

Ob der Effekt anderer Ionen wie K^+ , Mg^{++} , Ca^{++} das Ergebnis osmotischer Einflüsse ist oder aber ein Ioneneffekt, muß dahingestellt bleiben.

In der hier vorliegenden Studie wurde gezeigt, daß intra-zerebroventrikuläre Verabreichung von NaCl und Saccharose alleine keine sichtbaren Effekte auf die "Analgesie" aufwiesen, was darauf hinweist, daß keine osmotischen Einflüsse bei der beobachteten Natrium bzw. Saccharosewirkung mitwirkten. Interessant war aber auch die Beobachtung, daß Saccharose in Verbindung mit Morphin einen deutlichen Effekt zeigte. Zwar wurde die Dauer der Morphinwirkung nicht verändert,

aber die Morphinwirkung war bei der Saccharosegruppe früher sichtbar und blieb länger erhalten; um dann auf gleiche Werte wie die Vergleichsgruppe abzufallen. Wodurch dieser Saccharoseeffekt ausgelöst wird, ist nicht bekannt und konnte an dieser Stelle auch nicht weiter geklärt werden. Es wäre aber sicherlich von Interesse, dieser Frage nachzugehen.

Bei den Untersuchungen von Lee et al (69), die sich mit den Wirkungen von unterschiedlichen Ionen auf die sättigungsfähige Bindung von Dihydromorphin und Naloxon in-vitro beschäftigten, wurde in einem Versuchsansatz Rohrzucker benutzt. Dabei fiel auf; wenn der Versuch in einer isotonen Rohrzuckerlösung durchgeführt wurde, war B_{max} für Naloxon größer als jene in 50 mM Tris-HCl-Puffer. Solch ein Anstieg der B_{max} wurde aufgehoben, bei Hinzufügen von 50 mM NaCl zur Zuckerlösung.

Aufgrund dieser Untersuchung könnte man annehmen, daß Zucker zu einer veränderten Naloxonbindung am Rezeptor führt, die durch Natrium reversibel ist (Abb. 19).

Interaktion zwischen Zucker, NaCl und Naloxon



Abb. 19

Wenn Zucker nun die Naloxonbindung verändert, ist anzunehmen, daß auch die Morphinwirkung verändert wird. Es ist jedoch nicht vorherzusehen, ob diese Zuckerwirkung eine verstärkte oder eine abgeschwächte Morphinbindung hervorrufen würde. Die vorliegende Untersuchung, die die Saccharosegruppe als eine Kontrolle benutzte, konnte in-vivo deutlich zeigen, daß osmotische Einflüsse offensichtlich keine Wirkung auf die Tiere hatten und daß die Morphinwirkung in ihrer Maximalwirkung auch nicht beeinflußt wurde, daß aber ein Effekt vorhanden war, der darauf hinweist, daß eine Interaktion zwischen Saccharose und Morphin stattgefunden hat. Eine weitere Klärung konnte auch anhand der vorliegenden Literatur nicht erfolgen.

5.4 Mögliche Ursachen für unterschiedliche Ergebnisse in der Literatur

Interessant sind vor allem die ontogenetischen Aspekte, die Clendeninn et al. (17) in ihren Studien beschreiben. Bei Ratten kommt es am Ende der Fetalzeit bis 3. Woche postpartal zur stärksten Zunahme der Opiatbindung (3-4 fach), danach ist nur noch eine zweifache Zunahme bis zum Erwachsenenalter (10-20 Wochen) zu beobachten. Deshalb ist es unerlässlich, das Alter der Tiere zu berücksichtigen. Denn bei Vergleichen von Jungtieren mit Erwachsenen können differierende Ergebnisse auch auf den Entwicklungsstand der Tiere zurückgeführt werden.

Beim Meerschweinchen hingegen gab es kaum Unterschiede der Opiatbindungsfähigkeit bei Föten und erwachsenen Tieren (Faktor 2). Diese Beobachtung korreliert mit der Tatsache, daß diese Tiere bereits bei der Geburt ein voll entwickeltes Gehirn besitzen, während die Ratte einen Großteil der Hirnentwicklung in den ersten 3 Lebenswochen erfährt.

Deshalb ist es auch entscheidend bei allen Versuchen, die sich mit den zentralen Funktionen und speziell auch mit den

Opiatrezeptoren befassen, Tiere zu verwenden, die zentral
ausgereift sind.

6. Zusammenfassung

- NaCl vermag bei intrazerebroventrikulärer Injektion die Stärke der "Morphinanalgesie" abzuschwächen. Wie durch die in-vitro-Versuche gezeigt wurde, kommt es bei Addition von Kochsalz zu Hirnhomogenaten, die Opiatrezeptoren enthalten, zu einer deutlichen Verschiebung der Bindungsfähigkeit. Die bevorzugte Bindung von Antagonisten und die verminderte Bindung von Agonisten in Gegenwart von NaCl wird über eine Konformationsveränderung des Rezeptors erklärt. Die nachgewiesene signifikante Abschwächung der "Morphinanalgesie" durch Beeinflussung der Elektrolyte in unmittelbarer Nähe der Morphinrezeptoren unterstreicht die Bedeutung des NaCl und unterstützt das Modell der Konformationsänderung an der Opiatbindungsstelle des Rezeptors in Gegenwart von NaCl.
- Der Unterschied der Saccharose- und Scheininjektionsgruppe zu zwei Meßzeitpunkten weist darauf hin, daß auch die Saccharose einen Einfluß auf die "Morphinanalgesie" hat. Worauf diese Beeinflussung zurückzuführen ist, konnte im Rahmen der vorliegenden Untersuchung nicht weiter geklärt werden. Auch die Literatur konnte keine Klärung dieser Frage liefern.
- Daß es sich bei der hier demonstrierten NaCl-Wirkung nicht um osmotische oder Ioneneffekte selbst handelt, sondern um eine Interaktion bzw. um eine Beeinflussung der Morphinwirkung über zentrale Mechanismen, konnte eindeutig durch die Kontrollgruppen ohne Morphin gezeigt werden, die keine Abweichungen von den Nullwerten aufzeigten.

Die Vermutung, daß der früher beschriebene Einfluß von Diuretika auf die Morphinwirkung durch Verschiebung der Natriumkonzentration in den Geweben vermittelt wird, kann durch die vorliegende Arbeit gestützt werden.

An dieser Stelle danke ich Herrn Prof. Dr. Günther Stille herzlich für die Überlassung des Themas und die freundliche Betreuung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Bei Herrn Holger Liermann möchte ich mich besonders für die freundschaftliche Zusammenarbeit bei der Ausführung der Versuche und für die nützlichen Ratschläge während der Erstellung des schriftlichen Teils bedanken.

Mein Dank gilt allen Mitarbeitern des Instituts für Arzneimittel des Bundesgesundheitsamtes, die mir bei der technischen Durchführung der Versuche zur Seite standen, vor allem aber Frau Ruth Tertel und Herrn Alfons Schulz, die mich bei der Versuchsdurchführung freundlich unterstützten. Für die Erstellung der Zeichnungen und der Schreibarbeiten danke ich Frau Angelika Hoffmann recht herzlich.

Meinem Mann danke ich für seine Geduld.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ALBUS, K.
Method for application of drugs into separated parts of
the cerebroventricular system.
Physiology and behavior 8, 569 - 571, 1972
- 2 ANDERSON, K.V., and MAHAN, D.E.
Increased pain thresholds following combined lesions of
thalamic nuclei centrum medianum and centralis lateralis.
Psychon. Sci. 23, 113-114, 1971
- 3 ARIMA Kendo and KURIAKI Kaname
Some Pharmacological Studies on the renal carbonic anhydrase
activity and electrolytes excretion in the rat.
Jap. J. Pharmacol. 8, 165-169, 1959
- 4 ATWEH, S.F., KUCHAR, M.J.
Autoradiographic localisation of opiate receptors in rat
brain
III. The telencephalon
Brain Res. 134, 393-406, 1977
- 5 ATWEH, S.F., KUCHAR, M.J.
Autoradiographic localisation of opiate receptors in rat
brain.
I. Spinal cord and lower medulla.
Brain Res. 124, 53-67, 1977
- 6 ATWEH, S.F., KUCHAR, M.J.
Autoradiographic localization of opiate receptors in rat
brain.
II. The brainstem.
Brain Res. 129, 1-12, 1977
- 7 BEHR, Hans-Georg
Weltmacht Droge. Das Geschäft mit der Sucht.
Econ Verlag Wien, Düsseldorf 1. Aufl., 1980

- 8 BENTLEY, K.W. und HARDY, D.G.
Novel Analgesics and Molecular Rearrangements in the
Morphin-Thebaine Group. I. Ketones Derived from 6,
14-endo-Ethenotetrahydrothebaine.
Journal of the American chemical Society 89:13, June 21,
1967

- 9 BORISON, H.L.
The nervous system
Narcotic Drugs: Biochemical Pharmacology ed. D.H. Clouet,
342-365, New York: Plenum

- 10 BRAKKEE, J.-H. et al.
A simple technique for rapid implantation of a permanent
cannula into the rat brain ventricular system.
Laboratory Animal Science, 1979

- 11 CAMERON Ivan L., SHERIDAN Peter J., SMITH Nancy R.
An X-Ray Microanalysis Study of Differences in
Concentration of Elements in Brain Cells Due to Opiates
Cell Type, and Subcellular Location.
Journal of Neuroscience Research 3, 397-410, 1978

- 12 CASEY, K.L. & MELZACK, R.
In: New concepts in pain and its clinical management
pp. 13-31, 1967
Editor: E. Leong Way, Philadelphia. F.A. Davis Company

- 13 CHANG, K.J., TRIGGLE D.J.
Quantitative Aspects of Drug-Receptor Interactions
I. Ca^{++} and Cholinergic Receptor Activation in Smooth
Muscle: a Basic Model for Drug-Receptor Interactions.
Journal of theoretical biology 40, 125-154, 1975

- 14 CHERMAT, R., Simon
Injection intraventriculaire cérébrale chez le rat non
anesthésié.
J. Pharmacol (Paris), 489-492, 1975

- 15 CHO K.P., AKERA T., BRODY T.M.
Influences of electrolyte concentrations on the actions of morphine and nolozone in guinea-pig ileum. *Pharmacologist*, 22/3, No 796, 1980
- 16 CHU H., KLEMP A., STILLE G.
Effects of Furosemide and Spironolactone on the Behavior of Morphin-Tolerant Rats. *Psychopharmacology (Berlin)* 59, 309-310 1978
- 17 CLENDENINN, N.J., PETRAITIS, M., SIMON, E.J.
Ontological development of opiate receptors in redent brain. *Brain Res.* 118, 157-160, 1976
- 18 COLLIER, H.O.J., ROY, A.C.
Hypothesis: Inhibition of E-prostaglandinsensitive adenyl cyclase as the mechanism of morphine analgesia. *Prostaglandins* 7, 361-376, 1974
- 19 COLLIER, H.O.J., ROY, A.C.
Morphine-like drugs inhibit the stimulation by E prostaglandins of cyclic AMP formation by rat brain homogenate. *Nature* 248, 24-27, 1974
- 20 CREESE, J., SNYDER, S.H.
Receptor binding and pharmacological activity of opiates in the guinea-pig intestine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 194, 205-219, 1975
- 21 CREESE, I., PASTERNAK, G.W., PERT, C.B., SNYDER, S.H.
Discrimination by temperature of opiate agonist and antagonist receptor binding. *Life Sei.* 16, 1837-1842, 1975
- 22 DE WIED D., GISPEN W.H.
Impaired development of tolerance to morphine analgesia in rats with hereditary diabetes insipidus. *Psycho. pharmacol. (Berl.)* 46, 27-29, 1976

- 23 EDDY, N.B., LEIMBACH, D.
Synthetic analgesics. II. Dithenylbutanol and dithenylbutylamines. J. Pharmac. exp. Ther. 107, 385-393, 1953
- 24 EHRENPREIS, S., GREENBERG, J., BELMAN, S.
Prostaglandins reverse inhibition of electrically - induces contractions of guinea pig ileum by morphine, indomethacin and acetylsalicylic acid.
Nature New Biol 245, 280-282, 1973
- 25 EIDELBERG, E., BARSTOW, C.A.
Morphine tolerance and dependence induced by intraventricular injection. Science 174, 74-76, 1976
- 26 ERNST, L.
Untersuchungen über die analgetische Wirksamkeit von Tilidin und Pethidin sowie ihrer Hauptmetabolite.
Inaugural-Dissertation aus dem Institut für Arzneimittel des Bundesgesundheitsamtes Abteilung für klin. und experimentelle Pharmakologie (Berlin), 1981
- 27 FELDBERG, W.
A Pharmacological Approach to the brain's inner and outer surface. Edward Arnold London 1973
- 28 FELDBERG, W., FLEISCHHAUER, K.
A new experimental approach physiology and pharmacology of the brain. Brit. Med. Bull. 21, 36, 1965
- 29 FORTH, W., HENSCHLER, D., RUMMEL, W.
Allgemeine und spez. Pharmakologie und Toxikologie.
Wissenschaftsverlag Mannheim, Wien, Zürich, 427-436, 1983
- 30 GLOSSMANN, H., HORNING, R.
 α -Adrenoceptors in rat brain: Sodium changes the affinity of agonists for prazosin sites.
European Journal of Pharmacology 61, 407-408, 1980

- 31 GOEDECKE, H.W., KOYRO, J., MAHNKE, M., STILLE G.
Verstärkung der Morphin-Analgesie bei Ratten durch
Furosemid und K-Canreonat - Ein zentraler Angriffspunkt.
Institut für Arzneimittel des Bundesgesundheitsamtes,
Abt. klin. und experimentelle Pharmakol., Seestr. 11,
1000 Bln.-65
Deutschland, 1980
- 32 GREEBERG, David A., U'PRICHARD, David C., SHEEHAN, Peter,
SNYDER, Solomon H.
- Noradrenergic receptors in the brain: differential
effects of sodium on binding of ^3H agonists and ^3H
antagonists.
Brain Research 140, 378-384, 1978
- 33 HALPERN, M.
Effects of midbrain central gray matter lesions on
escape-avoidance behavior in rats.
Physiol Behav. 3, 171-178, 1968
- 34 HARRIS, L.S., DEWEY, W.L.
Chapter 4. Analgesics....strong and weak.
Annual Reports in Medicinal chemistry, Vol 2, 33-34,
1966
- 35 HARRIS, R.A., LOH, H.H., WAY, E.L.
Effect of divalent cations, cation-chelators and of
ionophore on morphine analgesia and tolerance.
J. Pharmacol exp. Ther. 195, 488-498, 1975
- 36 HAYDEN, J.F., et al.
Construction and implantation of a permanent cannula for
making injections into the lateral ventricle of the rat
brain.
Life Sciences 5, 1509-1515, 1966

- 37 HERMANN, M., WIEGLEB, J., LEUSCHNER, F.
Toxikologische Untersuchungen über ein neues stark wirksames Analgetikum.
Arzneimittelforschung 20,8, 983-990, 1970
- 38 HERMANN, M., STEINRECHER, W., HELDT, W.
Zur Pharmakologie eines neuen stark wirksamen Analgetikums.
Arzneimittelforschung 20, 977-983, 1970
- 39 HERZ, A., METYS, A.J., SCHUBERT, P., TESCHEMACHER, H.J.
On the central sites for the antinociceptive action of morphine and fentanyl. *Neuropharmacol* 9, 539-551, 1970
- 40 HERZ, A., TESCHEMACHER, H.-J.
ACTIVITIES AND SITES OF ANTINOCICEPTIVE ACTION OF MORPHINE-LIKE ANALGESICS. and Kinetics of Distribution following Intravenous, intracerebral and Intraventricular Applikation.
Advan. Drug Res 6, 29-119, 1971
- 41 HERZ, A., TESCHEMACHER, H.J., ALBUS, K., ZIEGLGÄNSBERGER, S.
Morphine Abstinence Syndrome in Rabbits Precipitated by Injection of Morphine Antagonists into the Ventricular System and Restricted Parts of it.
Psychopharmacologia 26, 219-235, 1972
- 42 HERZ, A., TESCHEMACHER, H.-J.
Development of tolerance to the antinociceptive effect of Morphine after intraventricular injection.
Experienta 29, 64-65, 1973
- 43 HERZ, A., BLÄSIG, J., PAPESCHI, R.
Role of catecholaminergic mechanism in the expression of the morphine abstinence syndrom in rats.
Psychopharmacol (Berlin) 39, 121-143, 1974
- 44 HERZ, Albert
Biochemische und pharmakologische Aspekte der Drogensucht.
Spektrum der Wissenschaft, April 1980

- 45 HILLER, J.M., PEARSON, J., SIMON, E.J.
Distribution of stereospecific binding of the potent narcotic analgesic etorphine in the human brain: Predominance in the limbic system.
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 6, 1052-1062, 1973
- 46 HILLER, J.M., SIMON, E.J.
Studies on opiate receptors in animal and human brain. In Tissue Responses to Addictive Drugs.
ed. D.H.Ford, D.H. Clouet, Spectrum (New York), 335-353, 1976
- 47 HITZEMANN, Robert J., HITZEMANN, Barbara A.
Binding of ^3H -Naloxone in the Mouse Brain: Effect of Ions and Tolerance Development.
Life Sciences Vol. 14, 2393-2404, 1974
- 48 HO, T.K., LOH, H.H., WAY, E.L.
Cyclic adenosine monophosphate antagonism of morphine analgesia.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 185, 336-346, 1973
- 49 HO, T.K., LA BELLA, F.S., PINSKY, C.
Opiate properties of SKF 525 A.
Canadian J. of Physicology and Pharmacology 56, 550-554, 1978
- 50 HUIDOBRO, F., HUIDOBRO-TORO, J. Pablo
Antidiuretic Effect of Morphine and Vasopressin in Morphin Tolerant and Non-Tolerant Rats, Differential Effects on Urine Composition.
European Journal of Pharmacology (Elsevier/North-Holland) 59, 55-64, 1979
- 51 HYDEN, Holger
A Calcium-Dependent Mechanism for Synapse and Nerve Cell Membrane Modulation.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, Vol. 71, No.8, 2965-2968, Aug. 1974

- 52 IWATSUBO, K., CLOUET, D.H.
Dopamine-sensitive adenylate cyclase of the caudate nucleus of rat treated with morphine or haloperidol
Biochem. Pharmacol. 24, 1499-1503, 1975
- 53 JAFFE, J.H.
Narcotic analgesics. The Pharmacological Basis of Therapeutics, ed. L.S., Goodman, A. Gilman, 237-275, New York: Macmillan 4th ed, 1970
- 54 JAQUET, Y.F., LAJTHA, A.
Morphine action at central nervous sites in rat: Analgesia or hyperalgesia depending on site and dose.
Science 182 (11), 490-492, 1973
- 55 KAKUNAGA, T., KANETO, H., HANO, K.
Pharmacologic Studies On Analgesics - VII. Significance Of The Calcium Ion In Morphine Analgesia.
The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. Vol 153, No. 1, USA, 134-141, 1966
- 56 KANETO, H.
Inorganic ions: The role of calcium. In Narcotic Drugs: Biochemical Pharmacology, ed, by D.H. Clouet, 300-309, Plenum Publishing Corporation New York 1971
- 57 KLEE, W.A., SHARMA, S.K., NIRENBERG, M.
Opiate receptors as regulators of adenylate cyclase.
Life Sci. Vol. 16, No 12, 1869-1874, 1975
- 58 KOBAYASHI, T.
Drug administration to cerebral cortex of freely moving dogs, Science, 135, 1126, 1962
- 59 KÖNIG, I.F.R., KLIPPEL, R.A.
The rat brain: a stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brainstem. Baltimore: Williams+Wilkins 1963

- 60 KORF, j., BUNNEY, B.S., AGHAJANIAN, G.K.
Noradrenergic neurons: Morphin inhibition of spontaneous activity.
Eur. J. Pharmacol. 25, 165-169, 1974
- 61 KOSTERLITZ, H.W., LESLIE, F.M.
Comparison of the receptor binding characteristics of opiat agonists interacting with μ - or κ -receptors.
Br. J. Pharmacol. 64, 607-614, 1978
- 62 KRIVROY, W.A., ZIMMERMANN, E., LANDE, S.
Facilitation of development of resistance to morphine analgesia by desglycinamide-8-lysine-vasopressin on suppression of memory by puromycin.
Proc. NTL. Acad. Sci. USA 69, 558-560, 1972
- 63 KUCHAR, M.J., PERT, C.B., SNYDER, S.H.
Regional distribution of opiat receptor binding in monkey + human brain.
Nature 245, 447-451, 1973
- 64 KURAISHI, Y., FUKUI, K., SHIOMI, H., AKAIIDO, A., TAKAGI, H.
Microinjection of opioids into the nucleus reticularis gigantocellularis of the rat: Analgesia and increase in thenormetanephrine level in the spinal cord.
Biochem. Pharmacol. Vol. 27, 2756-2758, 1978
- 65 KURAISHI, Y., HARADA, Y., SATOH, M., TAKAGI, H.
Antagonism by Phenoxybenzamine of the analgesic effect of morphine injected into the nucleus reticularis gigantocellularis of the rat.
Neuropharmacol. Vol 18, 107-110, 1979
- 66 KUSCHINSKY, G., LÜLLMANN, H.
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie
9. Aufl., 205-211, 1981

- 67 LASCHKA, E., HERZ, A., BLÄSIG, J.
 Sites of action of morphine involved in the development
 of physical dependence in rats. Part I.
 Psychopharmacol, (Berl.) 46, 133-139, 1976

- 68 LASCHKE, E., TESCHEMACHER, H., MEHRAEIN, P., HERZ, A.
 Sites of Action of morphine involved in the development
 of physical dependence on rats. Part II.
 Psychopharmacol (Berl.) 46, 141-147, 1976

- 69 LEE Cheng-Yi, AKIRA Tai, BRODY Theodore M.
 Effects of Na, K, Mg and Ca in the saturable binding of
 H dihydromorphine and H naloxone in vitro.
 The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics
 (USA), Vol. 202, No 1, 166-173, 1977

- 70 LEVY, R.A., PROUDFIT, H.K.
 Analgesia produced by Microinjection of Baclofen and
 Morphine at brain stem sites.
 European J. of Pharmacol., 57, 43-55, 1979

- 71 LICHTSHEIN, David, BOONE, Gloria, BLUME, Arthur
 Muscarinic Receptor Regulation of NG 108-115 Adenylate
 Cyclase:
 Requirement for Na and GTP.
 Journal of Cyclic Nucleotide, Res. 5, 367-375, 1979

- 72 LIEBMANN, J.M., MAYER, D.J., and LIEBESKIND, J.C.
 Mesencephalic central gray lesions and fear-motivated
 behavior in rats.
 Brain Research, 23, 353-370, 1970

- 73 LIERMANN, Holger
 Pharmakodynamik der Morphin-Beeinflussung mittels
 elektrolytverändernder Substanzen bei der morphintoleran-
 ten Ratte.
 Werksarbeit des Instituts für Arzneimittel des BGA,

Abteilung Klinische und experimentelle Pharmakologie,
1980, unveröffentlicht

- 74 MANERY, J.F.
Effect of Ca ions on membranes.
Federation Proceedings 25, 1804-1809, 1966
- 75 MARCZYNSKI, T.J.
Topical application of drugs to subcortical brain structures
and selected aspects of electrical stimulation
Ergeb. Physiol Bio. Chem. Exp., Pharmacol. 59, 86-159, 1967
- 76 MINNEMANN, K.P.
Morphine selectively blocks dopaminestimulated cyclic AMP
formation in rat neostriatal slices..
Br. J. Pharmacol 59, 480-481, 1977
- 77 MITCHELL, C.L., KAEHLER, W.W.
Effect of medial thalamic lesions on responses elicited by
thooth pulp stimulation. Amer. J. Phys., 210, 263-269, 1966
- 78 OWEN; R.T.
A critique of widely used neuropharmacological tests.
Meth. and Find. Expt. Clin. Pharmacol 1 (5), 269-275, 1979
- 79 PASTERNAK, G.W., SNYDER, S.H.
Identification of novel high affinity opiate receptor
binding in rat brain. Nature (London) 253, 563-565, 1975
- 80 PASTERNAK, G.W., SNOWMAN, A.M., SNYDER, S.H.
Selective enhancement of ^3H opiate agonist binding by
divalent cations. Mol. Pharmacol. 11, 735-744, 1975
- 81 PERT, C.B., PASTERNAK, G., SNYDER, S.H.
Opiate Agonists and Antagonists Discriminated by Receptor
Binding in Brain. Science 182, 1359-1361, 1973

- 82 PERT, C.B., SNYDER, S.H.
Properties of Opiat-Receptor binding in Rat Brain.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, Vol. 70, No. 8, 2243-2247, 1973
- 83 PERT, C.B., SNYDER, S.H.
Opiat receptor: Demonstration in nervous tissue.
Science 179, 1011-1014, 1973
- 84 PERT, C.B., APOSHIAN, D., SNYDER, S.H.
Phylogenetic distribution of opiate receptor binding.
Brain Res. 75, 356-361, 1974
- 85 PERT, A., YAKSH, R.
Sites of morphin induced analgesia in the primate brain:
relation to pain pathways.
Brain Research 80, 135-140, 1974
- 86 PERT, C.B., SNYDER, S.H.
Opiate-receptor binding of agonists and antagonists
effected differentially by sodium.
Molecular Pharmacology 10, 868-879, 1974
- 87 PERT, C.B., SNYDER, S.H.
Differential interactions of agonists and antagonists
with the opiate receptor.
Opiate receptor mechanism. Snyder, S.H., + Matthyse, S.,
Neurosciences Research Program Bulletin, 73-79, 1975
- 88 POPICK, F.R.
Application of a new intraventricular injection technique
in rat brain.
Norepinephrine studies. Life Sciences 18, 197-204, 1976
- 89 PORTOGHESE, P.S.
A New Concept on the Mode of Interaction of Narcotic
Analgesics with Receptors. J. medicinal Chem. 8, 609-616, 1965

- 90 REE, van, Jan M.
Multiple brain sites involved in morphine antinoci-
ception.
Utrecht, Communications, J. Pharmac. 29, 765, 1977
- 91 Research News
Opiate receptors: Implications an Applications.
Research News, Science Vol 189, 708-709, 1975
- 92 SATZINGER, G.
Synthese und Reaktionen von 4-Phenyl-3-amino-cyclo-
hexenon-(1), einer neuen Klasse von Analgetica.
Justus Liebig's Ann. Chem. 728, 64-87, 1969
- 93 SCHUBERT, P., HÖLLT, V., HERZ, A.
Autoradiographic evaluation of the intracerebral
distribution of ^3H -etorphine in the mouse brain.
Life Sci. 16, 1855-1856, 1975
- 94 SCHULTZ, O.E.
Struktur-Wirkungsbeziehungen.
Deutsche Apotheker-Zeitung 109/43m, 1637-1645, 1969
- 95 SHARMA, S.K., NIRENBERG, M., KLEE, W.A.
Morphine receptors as regulators of adenylate cyclase
activity.
Por. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 590-594, 1975
- 96 SIMON, Eric J., HILLER, Jacob M., EDELMAN, Irit.
Stereospecific Binding of the Potent Narcotic Analgesic
Etorphine to Rat-Brain Homogenate.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, Vol 70, No 7, 1947-1949,
July 1973
- 97 SIMON, E.J., HILLER, J.M., GROTH, J., EDELMAN, I.
Further properties of stereospecific opiate binding
sites in rat brain on the nature of the sodium effect.
The Journal of Pharmacology and Experimental Thera-
peutics Vol. 192, No. 3, 531-537, 1975

- 98 SIMON, E.J., GROTH, J.
Kinetics of opiate receptor inactivation by sulfhydryl reagents: Evidence for conformational change in presence of sodium ions.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 2404-2407, 1975
- 99 SIMON, E.J.
Opiate receptor binding with ^3H -etorphine.
Neurosci. Res. Program Bull. 13, 43-50, 1975
- 100 SIMON, E.J., HILLER, J.M.
The opiate receptors.
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 18, 371-394, 1978
- 101 SNYDER, S.H., PASTERNAK, G.W., PERT, C.B.
Opiate receptor mechanisms.
New York, Reprinted from: Handbook of Psychopharmacology Vol. 5, 329-360, 1975
- 102 SNYDER, S.H.
Opiate receptor in normal and drug altered brain function.
Nature Vol. 257, Sept. 18, 185, 1975
- 103 SNYDER, S.H., BENNETT, Jr., J.P.
Neurotransmitter receptors in the brain: biochemical identification.
Reprinted from Annual Review of Physiology Vo. 38, 1976
- 104 SPIEHLER, V.R., RANDALL, L.O.
Agonist-Antagonist Properties of Phenoxybenzamine in Antinociception and Opiate Dependence Tests.
European Journal of Pharmacology 55, 389-395, 1979
- 105 STÜRZEBECKER, St., KABIR, A.
Wasser- und Elektrolythaushalt der chronisch Morphin-behandelten Ratte.
Institut für Arzneimittel des BGA, Abteilung Klinische und experimentelle Pharmakologie, 1979

- 106 TAKEMORI, A.E., OKA, T., NISHIYAMA, N.
Alteration of analgesic receptor-antagonist interaction induced by morphine.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 186: 261-265, 1973
- 107 TERENIUS, L.
Stereospecific interaction between narcotic analgesics and a synaptic plasma membrane fraction of rat cerebral cortex. Acta Pharmacol. Toxicol., 32: 317-320, 1973
- 108 TSOU, K., JANG, C.S.
Studies on the site of analgesic action of morphine by intracerebral micro-Injection.
Scientia Sinica, Vol XIII, 1099-1109, 1964
- 109 EL'TSOVA, Z., KOMENDANTOVA, M.V., MILOGRADOVA, G.P.
Action of morphine + amidopyrine agonist a background of mineralocorticoid hormone and its agonist
Pharmacol. Toxicol. 41 <5>, 541-544, 1978
- 110 WATANABE, H.
The development of tolerance to and of physical dependence on Morphine following intraventricular injection in the rat.
Jap. J. Pharmacol. 21, 383-389, 1971
- 111 WILCOXON, F.
cit. Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabelle, 6. Aufl. K. Diem, ed., p. 170. Basel: J.R. Geigy AG, Pharmazeutische Abt.
- 112 WILLIAMS, R.J.P.
The biochemistry of sodium, potassium, magnesium + calcium.
Quart. Rev. Chem. Soc 24, 331-365, 1970
- 113 WU, Y., WEI, E.T.
Pressor effects of intracisternal Na^+ in normotensive

and spontaneously hypertensive rats.
Brain Res. 169 <3>, 605-609, 1979

- 114 YAKSH, T.L., YEUNG, J.C., RUDY, T.A.
A Systemic Examination in the rat of brain sites
sensitive to the direct application of morphine:
observation of differential effects within the
periaqueductal gray.
Brain Research 114, 83-103, 1976
- 115 YAKSH, T.L., RUDY, T.D.
Analgesia mediated by direct spinal action of narcotics.
Science 192, 1357-1358, 1976

8. ANHANG: WERTETABELLEN

Anhang: I

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: A₁, B₁ 1. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1	173 g	13	8	11	6	13	9	A ₁
2	180 g	5	9	7	15	7	7	
3	191 g	9	10	11	5	6	7	
4	175 g	8	9	8	8	6	7	
5	178 g	9	6	12	7	6	8	
6	189 g	5	10	11	8	9	10	B ₁
7	183 g	9	6	13	12	5	11	
8	183 g	13	7	12	10	16	9	
9	179 g	7	12	12	6	13	9	
10	190 g	8	14	9	10	7	13	

Anhang: II

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: C₁, D₁ 1. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1	184 g	6	9	10	11	8	7	C ₁
2	181 g	9	6	7	10	5	6	
3	180 g	6	8	10	9	27	8	
4	167 g	21	11	14	9	9	10	
5	187 g	7	10	8	8	7	8	
6	189 g	12	9	9	7	8	9	D ₁
7	168 g	13	15	7	7	6	9	
8	205 g	6	10	6	10	8	9	
9	189 g	9	14	7	9	10	10	
10	178 g	24	9	14	11	16	8	

Anhang: III

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: E₁, F₁ 1. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1	181 g	13	7	14	9	10	14	E ₁
2	189 g	5	8	9	12	8	9	
3	174 g	11	8	10	12	12	5	
4	174 g	10	11	10	15	14	9	
5	188 g	10	13	8	11	7	10	
6	182 g	5	10	14	12	41	18	F ₁
7	173 g	8	9	14	9	9	8	
8	193 g	7	9	5	7	5	7	
9	182 g	9	9	7	6	7	7	

Anhang: IV

Rangfolge der Tiere nach aufsteigenden Werten zu
jedem Meßzeitpunkt

Tiergruppe

A₁ - F₁ 0 0 15 30 60 120 Min.

1	5	6	5	5	5	5
2	5	6	6	6	5	6
3	5	6	7	6	5	7
4	5	7	7	6	6	7
5	6	7	7	7	6	7
6	6	8	7	7	6	7
7	6	8	7	7	6	7
Quartile	6,5	8	7,5	7	6,5	7
8	7	8	8	7	7	7
9	7	8	8	8	7	8
10	7	9	8	8	7	8
11	8	9	9	8	7	8
12	8	9	9	9	7	8
13	8	9	9	9	8	8
14	9	9	10	9	8	9
Median	9	9	10	9	8	9
16	9	9	10	9	8	9
17	9	9	10	10	9	9
18	9	10	11	10	9	9
19	9	10	11	10	9	9
20	10	10	11	10	10	9
21	10	10	12	11	10	9
22	11	10	12	11	12	10
Quartile	11,5	10,5	12	11	12,5	10
23	12	11	12	11	13	10
24	13	11	13	12	13	10
25	13	12	14	12	14	10
26	13	13	14	12	16	11
27	13	14	14	12	16	13
28	21	14	14	15	27	14
29	24	15	14	15	41	18

Anhang: V

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: A₁, B₁ 2. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1	188 g	9	13	23	29	11	9	A ₁
2	185 g	5	6	14	7	10	8	
3	202 g	6	9	7	6	7	10	
4	190 g	8	9	7	4	3	5	
5	182 g	5	5	10	4	3	11	
6	195 g	11	7	5	6	5	7	B ₁
7	182 g	6	9	11	11	8	7	
8	185 g	6	7	4	5	7	3	
9	185 g	7	11	7	9	46	7	
10	197 g	6	9	6	16	8	8	

Anhang: VI

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: C₁, D₁ 2. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1	194 g	10	9	8	10	6	4	C ₁
2	192 g	12	5	4	5	5	6	
3	188 g	7	7	5	10	5	10	
4	170 g	18	10	17	6	12	14	
5	198 g	8	7	3	8	7	5	
6	194 g	7	7	5	10	5	5	D ₁
7	178 g	7	10	6	9	6	5	
8	210 g	6	7	3	9	4	5	
9	186 g	4	6	5	4	6	6	
10	190 g	10	6	5	8	4	5	

Anhang: VII

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C

Tiergruppe: E₁, F₁ 2. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1	196 g	4	3	5	14	8	8	E ₁
2	199 g	7	42	10	10	36	11	
3	191 g	8	11	12	5	5	5	
4	188 g	12	12	11	7	10	9	
5	202 g	6	19	7	13	4	10	
6	189 g	5	5	8	12	10	12	F ₁
7	179 g	4	8	5	15	5	12	
8	200 g	8	8	7	11	6	4	
9	184 g	5	7	7	11	8	5	

Anhang: VIII

Rangfolge der Tiere nach aufsteigenden Werten zu
jedem Meßzeitpunkt

Tiergruppe	0	0	15	30	60	120 Min.
1	4	3	3	4	3	3
2	4	5	3	4	3	4
3	4	5	4	4	4	4
4	5	5	4	5	4	5
5	5	6	5	5	4	5
6	5	6	5	5	5	5
7	5	6	5	6	5	5
Quartile	5,5	6,5	5	6	5	5
8	6	7	5	6	5	5
9	6	7	5	6	5	5
10	6	7	5	7	5	5
11	6	7	5	7	5	5
12	6	7	6	8	6	6
13	6	7	6	8	6	6
14	7	7	7	9	6	7
Median	7	8	7	9	6	7
16	7	8	7	9	7	7
17	7	9	7	10	7	8
18	7	9	7	10	7	8
19	8	9	7	10	8	8
20	8	9	8	10	8	9
21	8	9	8	11	8	9
22	8	10	10	11	8	10
Quartile	8,5	10	10	11	9	10
23	9	10	10	11	10	10
24	10	11	11	12	10	10
25	10	11	11	13	10	11
26	11	12	12	14	11	11
27	12	13	14	15	12	12
28	12	19	17	16	36	12
29	18	42	23	29	46	14

Anhang: IX

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C

Tiergruppe: A₁, B₁ 3. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1		4	7	9				A ₁
2		7	7	8				
3		3	5	4				
4		9	3	3				
5		3	10	8				
6		7	7	7				B ₁
7		12	6	7				
8		7	6	5				
9		6	6	4				
10		4	6	3				

Anhang: X

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C

Tiergruppe: C₁, D₁

3. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.
-----	---------	---	---	----	----	----	----------

1		6	4	6			
2		4	4	6			
3		6	6	10			
4		7	8	7			
5		7	14	7			
6		6	8	8			
7		7	7	7			
8		14	6	5			
9		7	14	3			
10		5	12	11			

C₁

D₁

Anhang: XI

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: E₁, F₁ 3. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.
1		3	5	7			E ₁
2		5	5	6			
3		5	7	7			
4		5	7	7			
5		8	9	10			F ₁
6		4	3	3			
7		5	13	5			
8		3	3	5			
9		15	13	10			

Anhang: XII

Rangfolge der Tiere nach aufsteigenden Werten zu
jedem Meßzeitpunkt

Tiergruppe	0	0	15	30	60	120 Min.
1	3	3	3			
2	3	3	3			
3	3	3	3			
4	3	4	3			
5	4	4	4			
6	4	5	4			
7	4	5	5			
Quartile	4	5	5			
8	4	5	5			
9	5	6	5			
10	5	6	5			
11	5	6	6			
12	5	6	6			
13	5	6	6			
14	6	6	7			
Median	6	7	7			
16	6	7	7			
17	6	7	7			
18	7	7	7			
19	7	7	7			
20	7	7	7			
21	7	8	7			
22	7	8	8			
Quartile	7	8,5	8			
23	7	9	8			
24	7	10	8			
25	8	12	9			
26	9	13	10			
27	12	13	10			
28	14	14	10			
29	15	14	11			

Die Meßwerte waren so konstant, daß kein weiteres
Training nötig war.

Anhang: XIII

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: A₂, B₂ 1. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1	175 g	7	6	7	11	6	6	A ₂
2	185 g	7	6	7	10	16	8	
3	175 g	10	8	10	10	10	6	
4	186 g	9	12	14	12	10	1	
5	188 g	10	9	16	8	8	6	
6	185 g	4	6	10	9	4	6	B ₂
7	175 g	5	11	6	5	5	5	
8	198 g	5	9	8	6	9	5	
9	181 g	8	5	11	7	9	10	
10	176 g	4	9	18	13	7	12	

Anhang: XIV

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C

Tiergruppe: C₂, D₂

1. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1	167 g	6	5	7	3	7	4	C ₂
2	176 g	6	10	5	7	7	10	
3	176 g	10	16	10	7	7	7	
4	182 g	6	7	4	5	8	5	
5	180 g	9	13	8	7	4	6	
6	189 g	6	13	10	9	17	13	D ₂
7	188 g	5	10	4	8	13	4	
8	175 g	7	8	6	11	12	10	
9	179 g	7	9	4	6	4	6	
10	176 g	5	6	6	7	8	6	

Anhang: XV

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C

Tiergruppe: E₂, F₂ 1. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1	181 g	9	7	10	7	5	16	E ₂
2	190 g	9	11	7	16	11	8	
3	174 g	5	9	5	11	6	4	
4	187 g	6	7	5	5	8	4	
5	180 g	12	5	4	4	9	5	F ₂
6	186 g	5	10	8	8	11	12	
7	180 g	11	6	12	13	8	11	
8	187 g	7	11	10	7	8	5	
9	175 g	7	8	11	11	6	9	
10	183 g	6	7	6	9	6	8	

Anhang: XVI

Rangfolge der Tiere nach aufsteigenden Werten zu
jedem Meßzeitpunkt

Tiergruppe	0	0	15	30	60	120 Min.
A ₂ - F ₂						
1	4	5	4	3	4	4
2	4	5	4	4	4	4
3	5	5	4	5	4	4
4	5	6	4	5	5	4
5	5	6	5	5	5	5
6	5	6	5	6	6	5
7	5	6	5	6	6	5
Quartile	5	6	6	7	6	5
9	6	7	6	7	6	5
10	6	7	6	7	7	6
11	6	7	6	7	7	6
12	6	7	7	7	7	6
13	6	8	7	7	7	6
14	6	8	7	7	8	6
15	7	8	7	8	8	6
Median	7	8,5	7,5	8	8	6
16	7	9	8	8	8	6
17	7	9	8	8	8	7
18	7	9	8	9	8	8
19	7	9	10	9	8	8
20	7	9	10	9	9	8
21	8	10	10	10	9	9
22	9	10	10	10	9	10
Quartile	9	10	10	11	10	10
24	9	11	10	11	10	10
25	9	11	11	11	10	11
26	10	11	11	11	11	12
27	10	12	12	12	11	12
28	10	13	14	13	12	13
29	11	13	16	13	13	14
30	12	16	18	16	17	16

Anhang: XVII

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf"im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: A₂, B₂ 2. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1		9	5	4	7	9	A ₂	}
2		12	6	13	11	9		
3		13	5	11	10	6		
4		7	11	10	15	7		
5		7	6	10	11	7		
6		5	12	6	4	9	B ₂	}
7		3	6	5	6	10		
8		6	8	8	8	8		
9		7	10	10	9	3		
10		9	11	12	5	9		

Anhang: XVIII

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: C₂, D₂ 2. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1.		4	7	10	3	6	}	C ₂
2		4	14	6	8	4		
3		5	8	5	7	4		
4		6	7	5	6	6		
5		5	7	5	4	4		
6		5	3	12	5	10	}	D ₂
7		6	4	8	4	5		
8		12	5	14	5	6		
9		6	7	10	3	6		
10		4	5	10	6	6		

Anhang: XIX

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: E₂, F₂ 2. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1		14	10	18	10	6	E ₂	
2		10	6	10	5	7		
3		9	6	9	8	8		
4		6	4	9	7	5		
5		5	4	10	5	8		
6		8	12	8	17	11	F ₂	
7		6	6	9	6	12		
8		8	5	5	7	6		
9		5	9	7	10	10		
10		6	6	6	8	8		

Anhang: XX

Rangfolge der Tiere nach aufsteigenden Werten zu
jedem Meßzeitpunkt

Tiergruppe	0	15	30	60	120 Min.
$A_2 - F_2$					
1	3	3	4	3	3
2	4	4	5	3	4
3	4	4	5	4	4
4	4	4	5	4	4
5	5	5	5	4	5
6	5	5	5	5	5
7	5	5	6	5	6
Quartile	5	5	6	5	6
9	5	5	6	5	6
10	5	6	7	5	6
11	6	6	8	6	6
12	6	6	8	6	6
13	6	6	8	6	6
14	6	6	9	6	6
15	6	6	9	7	7
Median	6	6	9	7	7
16	6	6	9	7	7
17	6	7	10	7	7
18	7	7	10	7	8
19	7	7	10	8	8
20	7	7	10	8	8
21	8	8	10	8	8
22	8	8	10	8	9
Quartile	9	9	10	9	9
24	9	10	10	10	9
25	9	10	11	10	9
26	10	11	12	10	10
27	12	11	12	11	10
28	12	12	13	11	10
29	13	12	14	13	11
30	14	14	18	16	12

Anhang: XXI

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: A₂, B₂ 3. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	0	15	30	60	120 Min.	
1	202 g		4	10	7	10	5	A ₂
2	198 g		6	9	6	6	5	
3	194 g		7	6	5	6	4	
4	205 g		4	7	9	10	4	
5	199 g		6	7	6	7	11	
6	200 g		4	8	6	7	4	B ₂
7	195 g		5	4	3	5	5	
8	204 g		6	4	8	9	7	
9	190 g		4	5	8	5	7	
10	189 g		7	6	4	4	5	

Anhang: XXII

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C
 Tiergruppe: C₂, D₂ 3. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	15	30	60	120 Min.	
1	189 g	4	3	5	5	5	C ₂
2	190 g	10	5	4	5	6	
3	201 g	7	4	4	4	5	
4	199 g	5	3	7	6	5	
5	189 g	8	3	7	5	4	
6	205 g	10	9	4	7	11	D ₂
7	189 g	4	4	5	5	5	
8	184 g	7	9	8	5	5	
9	194 g	4	5	10	6	3	
10	193 g	7	5	7	8	3	

Anhang: XXIII

Einzelmeßwerte der Trainingsphase

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C

Tiergruppe: E₂, F₂ 3. Tag

Zusammenfassung aller Käfige

Nr.	Gewicht	0	15	30	60	120 Min.	
1	192 g	5	8	9	7	8	E ₂
2	207 g	5	5	6	5	4	
3	186 g	7	3	9	6	5	
4	190 g	6	6	7	4	9	
5	193 g	7	11	10	6	4	
6	198 g	5	10	8		12	F ₂
7	201 g	4	3	6	6	5	
8	208 g	4	6	5	4	6	
9	192 g	6	8	11	10	8	
10	198 g	7	4	6	4	5	

Anhang: XXIV

Rangfolge der Tiere nach aufsteigenden Werten zu
jedem Meßzeitpunkt

Tiergruppe	0	15	30	60	120 Min.
$A_2 - F_2$					
1	4	3	3	4	3
2	4	3	4	4	3
3	4	3	4	4	4
4	4	3	4	4	4
5	4	3	4	4	4
6	4	4	5	5	4
7	4	4	5	5	4
Quartile	4	4	5	5	4
9	4	4	5	5	5
10	5	4	6	5	5
11	5	5	6	5	5
12	5	5	6	5	5
13	5	5	6	5	5
14	5	5	6	6	5
15	6	5	6	6	5
Median	6	5,5	6,5	6	5
16	6	6	7	6	5
17	6	6	7	6	5
18	6	6	7	6	5
19	6	6	7	6	5
20	7	7	7	6	5
21	7	7	8	7	6
22	7	8	8	7	6
Quartile	7	8	8	7	7
24	7	8	8	7	7
25	7	9	9	8	8
26	7	9	9	8	8
27	7	9	9	9	9
28	8	10	10	10	11
29	10	10	10	10	11
30	10	11	11	10	12

Anhang: XXV

Einzelmeßwerte der Auswertungsgruppe α

nach Kontrolle des Kathetersitzes

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C

Medikation: 12,5 mg Morphin/Kg KG/5 ml H₂O s.c.
+ 10 µl 0,8 molare Saccharoselösung ICV

Nr.	Gewicht	0	15	30	45	60	90	120 Min.
1	188 g	11	15	19	30	60	60	25
2	220 g	9	19	60	51	60	60	23
3	176 g	4	12	42	31	60	60	17
4	204 g	7	13	46	60	60	60	20
5	203 g	6	18	60	60	60	60	16
6	197 g	8	17	60	60	60	56	16
7	208 g	13	21	40	60	60	60	18
8	207 g	10	16	16	36	22	25	18
Quartile		6,5	14	29,5	33,5	60	58	16,5
Median		8,5	16,5	44	55,5	60	60	18
Quartile		10,5	18,5	60	60	60	60	21,5

Anhang: XXVI

Einzelmeßwerte der Auswertungsgruppe β
nach Kontrolle des Kathetersitzes

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C

Medikation: 12,5 mg Morphin/Kg KG/5 ml H₂O s.c.
+ 10 µl 0,5 molare NaCl-Lösung ICV

Nr.	Gewicht	0	15	30	45	60	90	120 Min.
1	188 g	6	14	22	30	24	27	8
2	202 g	6	16	13	60	60	60	36
3	201 g	9	20	58	60	60	60	39
4	197 g	6	15	13	21	12	14	10
5	196 g	6	13	27	25	36	8	11
6	190 g	5	10	18	30	38	32	19
7	218 g	5	13	7	28	15	7	6
8	185 g	9	10	16	46	27	12	7
9	205 g	6	17	13	32	33	44	10
10	207 g	6	37	20	17	39	20	8
Quartile		6	13	13	25	24	12	8
Median		6	14,5	14,5	30	34,5	23,5	10
Quartile		6	17	22	46	39	44	19

Anhang: XXVII

Einzelmeßwerte der Auswertungsgruppe γ
nach Kontrolle des Kathetersitzes

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C

Medikation: 12,5 mg Morphin/Kg KG/5 ml H₂O s.c.
Scheininjektion ICV

Nr.	Gewicht	0	15	30	45	60	90	120 Min.
1	177 g	9	13	26	60	60	60	32
2	192 g	10	11	59	54	60	36	19
3	190 g	4	9	46	20	50	30	12
4	200 g	14	8	23	60	60	60	31
5	201 g	6	11	16	56	25	11	10
6	202 g	4	6	31	19	9	10	5
7	195 g	7	18	19	50	60	60	60
8	193 g	7	11	60	60	60	60	60
9	192 g	5	12	18	46	60	27	12
Quartile		4,5	8,5	17	33	37,5	18,5	11
Median		7	11	23	54	60	36	19
Quartile		9,5	12,5	38,5	60	60	60	36

Anhang: XXVIII

Einzelmeßwerte der Auswertungsgruppe δ
nach Kontrolle des Kathetersitzes

"Analgesieverlauf" im Heizplattentest 58° C

Medikation: 10 µl 0,8 molare Saccharose-Lösung ICV

Nr.	Gewicht	0	15	30	45	60	90	120 Min.
1	191 g	6	4	8	4	5	4	7
2	191 g	6	4	4	4	6	6	3
3	195 g	8	6	9	7	11	18	7
4	196 g	6	4	9	11	5	10	10
5	195 g	8	6	9	12	7	4	12
6	188 g	5	6	9	4	8	7	5
7	188 g	4	2	4	4	3	3	4
8	189 g	4	5	6	7	6	18	8
9	187 g	6	6	7	8	5	6	5
10	200 g	7	14	9	7	4	7	6
11	200 g	9	9	7	7	4	8	4
Quartile		5	4	6	4	4	4	4
Median		6	6	8	7	5	7	6
Quartile		8	6	9	8	7	10	8

Anhang: XXIX

Einzelmeßwerte der Auswertungsgruppe ξ
nach Kontrolle des Kathetersitzes

"Analgesieverlauf"im Heizplattentest 58° C

Medikation: 10 µl 0,5 molare NaCl-Lösung ICV

Nr.	Gewicht	0	15	30	45	60	90	120 Min.
1	200 g	8	8	16	5	8	8	7
2	187 g	5	7	8	4	8	8	4
3	188 g	7	6	3	7	6	12	10
4	175 g	9	6	13	22	6	10	14
5	204 g	8	5	11	10	4	5	8
6	195 g	11	9	11	8	7	8	5
7	183 g	7	7	9	10	6	7	11
8	187 g	4	8	9	11	7	5	9
9	198 g	6	7	6	5	8	5	3
10	192 g	9	12	4	7	14	7	7
Quartile		6	6	6	5	6	5	5
Median		7,5	7	9	7,5	7	7,5	7,5
Quartile		9	8	11	10	8	8	10

9. LEBENS LAUF

Marlies Igel-Thorn geb. Igel

23. Juli 1950 geboren in Itzehoe als Tochter von
Werner Igel, Feinmechaniker und
Lydia Igel, geb. Thiel

1957 - 1960 Volksschule Pforzheim, Inselschule

1960 - 1962 Volksschule Pforzheim, Brötzingen Schule

1962 - 1968 Hilda-Gymnasium Pforzheim
(mittlere Reife)

1968 - 1970 Handelslehranstalt II, Karlsruhe
Kfm. Berufsschule
Ausbildung als Zahnarzthelferin

1970 - 1972 Berufspraxis als Zahnarzthelferin

1972 - 1974 (Dez.) Berlin-Kolleg
Abschluß: Allgemeine Hochschulreife

1975 (April) Zulassung zum Studium der Humanmedizin
an der Freien Universität Berlin

1977 (April) Ärztliche Vorprüfung

1978 (April) Erster Abschnitt d. Ärztl. Prüfung

1980 (Januar) Beginn des praktischen Teils der vor-
liegenden Dissertation unter der
Leitung von Prof. Dr. G. Stille

1980 (September) Zweiter Abschnitt der Ärztl. Prüfung

1980 - 1981 Praktisches Jahr:
Innere Medizin im Krankenhaus am Urban,
Kinderheilkunde in der Kinderklinik des
Rudolf Virchow Krankenhauses
Chirurgie im Rudolf Virchow Krankenhaus

1982 Dritter Abschnitt der Ärztl. Prüfung

22. Juni 1982 Approbation als Ärztin

seit 1.1.1984 Assistenzärztin in der Internistischen
Praxisgemeinschaft Roderich Nehls und
Dr. Hans-Georg Fritz in Berlin

Ich bin verheiratet und habe einen
2 Jahre alten Sohn.

